

**Univerzitet u Beogradu
Medicinski fakultet**

Dr Marija V. Jovanović

**Primena različitih perfuzionih tehnika
magnetne rezonance mozga u cilju
diferenciranja postterapijskih sekvela i
tumorskih promena kod osoba sa
glioblastomom**

Doktorska disertacija

Beograd, 2017

**University of Belgrade
Faculty of Medicine**

Marija V. Jovanovic, MD

**Application of different perfusion MRI
techniques in differentiation of
posttreatment sequelae and tumor
lesions in patients with glioblastoma**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2017

Mentor: Prof.dr Ružica Maksimović, profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, naučna oblast Radiologija

Članovi komisije za odbranu doktorske disertacije:

1. **Prof.dr Danica Grujičić**, profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, naučna oblast Neurohirurgija
2. **Prof.dr Tatjana Pekmezović**, profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, naučna oblast Epidemiologija
3. **Prof.dr Dragan Mašulović**, profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, naučna oblast Radiologija
4. **Dr.sci.med. Sandra Radenković**, naučni saradnik, naučna oblast Radiologija, zaposlena u Institutu za onkologiju i radiologiju Srbije
5. **Prof.dr Dragan Stojanov**, profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu, naučna oblast Radiologija

Izjave zahvalnosti

Sa poštovanjem i velikim zadovoljstvom se zahvaljujem svojim mentorima prof.dr Tatjani Stošić-Opinčal i prof.dr Ružici Maksimović na ljudskoj i stručnoj pomoći, podršci, razumevanju i strpljenju.

Posebno sam zahvalna prof.dr Tatjani Pekmezović na ukazanom poverenju, posvećenosti, nepokolebljivoj veri u mene i u moj uspeh, kao i na nesebičnoj podršci, što mi je bilo od neizrecive pomoći da istrajem u svim fazama izrade ove doktorske disertacije. Bila mi je izuzetna čast što sam bila doktorant Katedre za epidemiologiju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, gde se stiču znanja o naučno-istraživačkoj delatnosti kakva se retko gde mogu steći.

Za moje uvođenje u svet nauka, na usmeravanju, nesebičnoj podršci i prijateljstvu, izuzetnu zahvalost dugujem Svetlani Gavrilović, diplomiranom fiziko-hemičaru i šefu odseka za naučno-istraživački rad Odeljenja magnetne rezonance u Centru za radiologiju i magnetnu rezonanciju Kliničkog centra Srbije.

Mom životnom učitelju i savetodavcu prim.dr Slobodanu Lavrniću dugujem većitu zahvalnost što sam ovde gde jesam sada.

Želim da se neizmerno zahvalim svim kolegama - medicinskim sestrama, radiološkim tehničarima i lekarima Odeljenja magnetne rezonance Centra za radiologiju i magnetnu rezonanciju Kliničkog centra Srbije na nesebičnoj pomoći i učešću u izradi ove doktorske disertacije.

Posebnu zahvalnost želim da izrazim svojoj porodici kojoj posvećujem ovu doktorsku disertaciju.

Autor

Primena različitih perfuzionih tehnika magnetne rezonance mozga u cilju diferenciranja postterapijskih sekvela i tumorskih promena kod osoba sa glioblastomom

Rezime

Uvod. Iako je postoperativna primena radioterapije i hemioterapije produžila preživljavanja pacijenata obolelih od glioblastoma multiforme (GBM), ona je usloвила i dijagnostičke teškoće u diferenciranju recidiva GBM tumora od terapijskih sekvela. Kako konvencionalni magnetno rezonantni prikaz (magnetic resonance imaging, MRI) endokranijuma onemogućava diferenciranje ova dva entiteta, koja zahtevaju različite terapijske pristupe, primena naprednih MRI tehnika je neophodna. Cilj ove studije je bio da se proceni vrednost parametara naprednih MRI tehnika statističkom analizom i primenom veštačkih neuronskih mreža (artificial neuronal network, ANN) u diferencijaciji GBM rekurentnog tumora od terapijskih sekvela.

Metode. Studija je primenjena kod 56 pacijenata sa patohistološki verifikovanim GBM koji su imali kliničko i/ili radiološko pogoršanje nalaza nakon sprovedene posthirurške radioterapije i hemioterapije temozolomidom. Kod svih pacijenata je primenjen konvencionalni MR pregled endokranijuma sa primenom naprednih MRI tehnika: difuzijskih prikaza (diffusion-weighted imaging, DWI), prikaza susceptibilnosti (susceptibility-weighted imaging, SWI), protonske magnetno rezonantne spektroskopije (proton magnetic resonance spectroscopy, ^1H -MRS), a kod 31 pacijenata su primenjene i napredne tehnike perfuzijskih prikaza (perfusion-weighted imaging, PWI) – tehnika obeležavanja arterijskih spinova (arterial spin labeling, ASL) i dinamske susceptibilnosti kontrasta (dynamic susceptibility contrast, DSC). Analizirane su: vrednosti normalizovanog minimalnog i srednjeg prividnog difuzijskog koeficijenta (apparent-diffusion coefficient, ADC), broj krvnih sudova prikazanih na SWI, holin (choline, Cho)/kreatin (creatine, Cr) odnos, vrednosti normalizovanog cerebralnog krvnog protoka (cerebral blood flow, CBF) i cerebralnog krvnog volumena (cerebral blood volume, CBV). Na osnovu neuroradiološke MR analize pacijenti su klasifikovani u grupu GBM rekurencije ili terapijskih sekvela. Radiološka dijagnoza je potvrđena

kliničko-radiološkim praćenjem u trajanju od najmanje tri meseca od inicijalnog kliničkog ili radiološkog pogoršanja stanja pacijenta. Dobijene MR vrednosti ADC, SWI, odnosa Cho/Cr i CBF i CBV parametara su bile statistički analizirane, a primenom ANN analizirani su i ADC, SWI i Cho/Cr vrednosti.

Rezultati. Statistička analiza je pokazala da postoji signifikantna i visoka korelacija između normalizovane minimalne i srednje ADC vrednosti i normalizovane CBF i CBV vrednosti, a da ne postoji korelacija između analiziranih ADC i Cho/Cr vrednosti u diferencijaciji GBM rekurencije od terapijskih sekvela. Granične vrednosti za GBM rekurenciju su bile sledeće: 1.14 za normalizovanu minimalnu ADC vrednost (54% senzitivnost, 71% specifičnost), 1.13 za normalizovanu srednju ADC vrednost (51% senzitivnost, 71% specifičnost), 1.8 za Cho/Cr odnos (92% senzitivnost, 82% specifičnost), gradus 2 za SWI (87% senzitivnost, 82% specifičnost). Statistička analiza je pokazala da je granična vrednost za prisustvo tumora 2.89 za CBV sa 100% senzitivnosti i 100% specifičnosti, kao i 0.995 za CBF sa senzitivnošću od 100% i specifičnošću od 73.7%, tj. 1.02 sa senzitivnošću od 92.3% i specifičnošću od 92.9%. Tačna predikcija ANN analizom vrednosti ADC, SWI i Cho/Cr odnosa u klasifikaciji pacijenata u grupu tumorske rekurencije ili terapijskih sekvela je bila 99% tokom trening faze i 96.8% tokom faze testiranja.

Zaključak. Multiparametrijska analiza primenom ANN omogućava diferencijaciju između GBM rekurencije i terapijskih sekvela na osnovu analiziranih ADC, SWI i ¹H-MRS parametara, i može biti primenjena u kliničkoj praksi. ASL tehnika perfuzije omogućava diferencijaciju između tumorske rekurencije i terapijskih sekvela, te može biti adekvatna alternativa DSC tehnici perfuzije.

Ključne reči: glioblastom, rekurentni tumor, terapijske sekvele, magnetno-rezonantni imidžing, difuzija, susceptibilnost, spektroskopija, perfuzija, veštačke neuronske mreže

Naučna oblast: Medicinske nauke

Uža naučna oblast: Radiologija

Application of different perfusion MRI techniques in differentiation of posttreatment sequelae and tumor lesions in patients with glioblastoma

Abstract

Introduction. Although, surgical resection followed by radiotherapy and different modalities of chemotherapy have increased the overall survival of patients with glioblastoma multiforme (GBM), they have hampered neuroradiological diagnostic in differentiation between GBM recurrence and treatment effects. Since brain conventional magnetic resonance imaging (MRI) can not achieve clear differentiation between these two entities, which require a different treatment approach, the application of advanced MRI techniques is necessary. The aim of this study was to evaluate the values of parameters of advanced MRI techniques by statistical analysis and the use of artificial neuronal network (ANN) in the differentiation of GBM recurrent tumors from treatment effects.

Methods. The study was applied in 56 patients with pathohistologically verified GBM who had a clinical and/or radiological deterioration after postsurgical radiotherapy and chemotherapy with temozolomide. In all patients, a conventional MRI of the brain was applied with advanced MRI techniques: diffusion-weighted imaging (DWI), susceptibility-weighted imaging (SWI) and proton magnetic resonance spectroscopy (^1H -MRS), and in 31 patients were also applied advanced perfusion-weighted imaging (PWI) techniques - arterial spin labeling (ASL) and dynamic susceptibility contrast (DSC) techniques. The values of: the normalized minimal and mean apparent diffusion coefficient (ADC), the number of blood vessels on SWI, the choline (Cho)/creatine (Cr) ratio, the values of normalized cerebral blood flow (CBF) and cerebral blood volume (CBV) were analyzed. Based on neuroradiologic MRI analyzes, patients were classified into GBM recurrence or treatment effects. Radiological diagnosis was confirmed by clinical-radiological monitoring lasting at least three months from the initial clinical or radiological deterioration of the patient's condition. The obtained MRI values of ADC, SWI, Cho/Cr ratio and CBF and CBV parameters were statistically analyzed, and ADC, SWI and Cho/Cr values were also analyzed using ANN.

Results. Statistical analysis has shown that there is a significant and high correlation between the normalized minimum and mean ADC values and normalized CBF and CBV values, and there is no correlation between the analyzed ADC and Cho/Cr values in the differentiation of the GBM recurrence from the treatment effects. Cut-off values for tumour presence were as follows: 1.14 for normalized minimum ADC value (54% sensitivity, 71% specificity), 1.13 for normalized mean ADC value (51% sensitivity, 71% specificity), 1.8 for Cho/Cr ratio (92% sensitivity, 82% specificity), grade 2 for SWI (87% sensitivity, 82% specificity). The statistical analysis showed that cut-off values for the presence of tumor were 2.89 for CBV with 100% sensitivity and 100% specificity, as well as 0.995 for CBF with a sensitivity of 100% and a specificity of 73.7%, i.e. 1.02 with a sensitivity of 92.3% and a specificity of 92.9%. An accurate prediction of ANN to classify patients into GBM recurrence or treatment effects group, based on ADC, SWI and Cho/Cr values, was 99% during the treating phase and 96.8% during the testing phase.

Conclusion. Multiparametric analysis using ANN allows differentiation between GBM recurrence and treatment effects based on analyzed ADC, SWI and ¹H-MRS parameters, and can be applied in clinical practice. The ASL perfusion technique allows differentiation between tumor recurrence and treatment effects, and can be an adequate alternative to the DSC perfusion technique.

Keywords: glioblastoma, recurrent tumor, treatment effects, magnetic resonance imaging, diffusion, susceptibility, spectroscopy, perfusion, artificial neural networks

Scientific field: Medical science

Scientific subfield: Radiology

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Glioblastom.....	2
1.1.1. Epidemiologija	2
1.1.2. Patohistologija.....	2
1.1.3. Klinička slika	4
1.1.4. Terapija	7
1.2. Terapijske sekvele	10
1.3. Magnetno-rezonantni imidžing i radiološki prikaz glioblastoma.....	12
1.3.1. Konvencionalni MRI.....	13
1.3.2. Napredne MRI tehnike.....	15
1.3.2.1. DWI	16
1.3.2.2. SWI.....	17
1.3.2.3. ¹ H-MRS	17
1.3.2.4. PWI.....	19
1.4. MRI analiza rekurentnog glioblastoma i terapijskih sekvela.....	21
1.4.1. Analiza rekurentnog glioblastoma i terapijskih sekvela na osnovu konvencionalnog MRI	21
1.4.2. Analiza rekurentnog glioblastoma i terapijskih sekvela na osnovu naprednih MRI tehnika.....	23
1.5. Problem istraživanja.....	27
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	30
3. MATERIJAL I METODE ISTRAŽIVANJA.....	32
3.1. Materijal istraživanja	33

3.2. Metod istraživanja	34
3.2.1. MRI protokol pregleda endokranijuma.....	34
3.2.2. Radiološka MRI analiza.....	36
3.2.2.1. DWI analiza.....	36
3.2.2.2. SWI analiza.....	37
3.2.2.3. ¹ H-MRS analiza.....	37
3.2.2.4. PWI analiza.....	37
3.3. Kriterijumi za dijagnozu rekurentnog tumora i terapijskih sekvela	38
3.4. Statistička analiza podataka	38
3.5. Analiza podataka primenom veštačke neuronske mreže	39
4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA.....	41
4.1. Odlike ispitanika	42
4.2. Statistički rezultati	47
4.2.1. Statistički rezultati DWI analize	47
4.2.2. Statistički rezultati SWI analize	49
4.2.3. Statistički rezultati ¹ H-MRS analize	50
4.2.4. Statistički rezultati analize PWI.....	50
4.2.5. Statistički rezultati analize udruženih MR parametara	51
4.3. Rezultati analize veštačke neuronske mreže	56
5. DISKUSIJA.....	58
6. ZAKLJUČCI.....	70
7. LITERATURA	73

1. UVOD

1.1. Glioblastom

1.1.1. Epidemiologija

Glioblastom (glioblastoma s. glioblastoma multiforme, GBM) predstavlja najučestaliji i najmaligniji primarni tumor mozga koji čini oko 15-20% intrakranijalnih i oko 50-60% astrocitnih tumora mozga (Louis i sar., 2007; Louis i sar., 2016).

Iako predstavljaju svega oko 1-2% sveukupnih maligniteta, u većini evropskih i američkih zemalja, incidencija javljanja GBM tumora mozga je 3-4 nova slučaja GBM na 100 000 stanovnika godišnje (Newton i sar., 2007).

Iako se može javiti u bilo kojoj životnoj dobi, GBM se tipično javlja u adultnoj populaciji, sa pikom incidencije između V i VII decenije života, i sa češćim javljanjem kod muškog, nego kod ženskog pola u odnosu 1.5:1 (Louis i sar., 2007; Newton i sar., 2007).

1.1.2. Patohistologija

GBM se prema patohistološkoj klasifikaciji Svetske zdravstvene organizacije (World Health Organization, WHO), kao WHO gradus IV tumora, karakteriše ekspanzivno-infiltrativnim rastom sa: ćelijskim i jedarnim pleomorfizmom, učestalim mitozama, vaskularnom trombozom, mikrovaskularnom proliferacijom, odnosno neoangiogenezom, i nekrozom (Louis i sar., 2007).

Prisustvo mikrovaskularne proliferacije i/ili nekroze izdvaja GBM od drugih malignih astrocitoma. Vaskularna proliferacija se karakteriše nagomilavanjem endotelnih ćelija uključujući i stvaranjem krvnih sudova u vidu glomerularnih formacija. U nekim slučajevim formacije glomerularnih krvnih sudova mogu da okružuju zone nekroze u vidu talasastih naslaga. Nekroza se može zapaziti u velikim amorfnim zonama, koje su u osnovi ishemične, ili se može pojaviti u vidu serpenginoznih regiona koji su okruženi palisadama tumorskih ćelija, što predstavlja

takozvane perinekrotične pseudopalisade. Nekroza sa nuklearnim pseudopalisadama je u suštini patognomonična za GBM (Newton i sar., 2007).

Druge tipične odlike GBM tumora su tipično prominentni celularni i jedarni pleomorfizam i atipija, mitotska aktivnost i multijedarne gigantske ćelije, kao i naglašen infiltrativni kapacitet okolnog moždanog tkiva. Mitotički indeks *Ki-67* iznosi obično oko 15-20%, ali može biti i značajno veći kod nekih GBM tumora mozga (Newton i sar., 2007).

Najveći broj tumora (oko 90%) se rapidno razvija kao *de novo* nastala lezija predstavljajući primarni GBM tumor, dok se ređi, sekundarni GBM tumor (oko 10%) sporo razvija progresivnom transformacijom iz niže gradusnog difuznog astrocitoma ili anaplastičnog astrocitoma (Louis i sar., 2007). Difuzni astrocitom je niskogradusni tumor, WHO gradus II, sa značajnom infiltracijom okolnog moždanog tkiva. On je solidne i homogene građe uslovljene relativno uniformnom populacijom tumorskih ćelija. Tumorsko tkivo difuznog astrocitoma se karakteriše minimalnim nuklearnim i celularnim pleomorfizmom ili atipijom, sa često prisutnim mikrocistama, bez mitotske aktivnosti i bez vaskularne hiperplazije. Naspram njega, anaplastični astocitom predstavlja visokogradusni infiltrativni tumor, WHO gradus III, koji može nastati *de novo* ili transformacijom niskogradusnog difuznog astrocitoma u viši gradus. Za razliku od difuznog astrocitoma, anaplastični astrocitom ima izraženiji ćelijski i nuklearni pleomorfizam, može imati mitotsku aktivnost, kao i regije vaskularne proliferacije, ali bez nekroze tkiva. I difuzni astrocitom i anaplastični astocitom su manje agresivni astrocitni tumori koji se javljaju kod mlađe populacije pacijenata. Upravo se transformacijom difuznog ili anaplastičnog astrocitoma u visokogradusni GBM razvija forma sekundarnog GBM, koja je manje agresivna i javlja se kod mlađih pacijenata, za razliku od primarnih GBM tumora (Ohgaki i sar., 2013).

U trenutku dijagnostike najveći broj primarnih GBM tumora je velikih dimenzija i može zahvatiti više od jednog režnja mozga. Primarni GBM je najčešće lokalizovan supratentorijalno u subkortikalnoj beloj masi hemisfera velikog mozga, i to najčešće u temporalnom, zatim frontalnom i parijetalnom, a najređe u okcipitalnom režnju velikog

mozga. Tumorska infiltracija se često širi u korteks mozga i preko korpusa kalozuma u kontralateralnu hemisferu. Pored navedenih lokalizacija, GBM se može javiti i u bazalnim ganglijama i talamusu, a retko i u komornom sistemu mozga, malom mozgu, moždanom stablu i kičmenoj moždini. Lezije su najčešće unilateralne, mada su one u korpusu kalozumu i moždanom stablu obično simetrično bilateralne (Louis i sar., 2007; Newton i sar., 2007).

Širenje GBM tumora u kontralateralnu hemisferu se tipično odvija preko korpusa kalozuma u formi „leptira“, zatim preko kapsule interne, optičke radijacije, kao i preko anteriorne i posteriorne komisure. Infiltrativno širenje tumora može dovesti do pojave multifokalnog GBM, a retko se mogu javiti i metastatske lezije, od koji je najčešća diseminacija malignih ćelija putem likvora u druge delove centralnog nervnog sistema (Louis i sar., 2007; Newton i sar., 2007).

Multifokalni i multicentrični GBM se retko javljaju i čine oko 0.5-1% svih GBM tumora. Dok multicentrični GBM predstavlja pojavu većeg broja lezija u različitim režnjevima ili hemisferama mozga bez evidentne konekcije lezija, kod multifokalnog GBM vidljiva je radiološka ili mikroskopska konekcija između lezija (Newton i sar., 2007).

1.1.3. Klinička slika

Primarni GBM tumor se rapidno razvija sa kratkim trajanjem kliničke simptomatologije, obično u trajanju manjem od 3 meseca, od kojih su najčešći znaci povišenog intrakranijalnog pritiska: glavobolja, muka i/ili povraćanje sa edemom papile optičkog nerva. Pored navedenog, mogu se javiti i: epileptički napad, hemipareza, poremećaj ravnoteže, poremećaj vida, kao i nespecifični simptomi i znaci, poput psihičke izmenjenosti pacijenta (Louis i sar., 2007; Newton i sar., 2007).

Funkcionalnost pacijenta ispituje se anamnestičkim podacima i kliničkim pregledom pacijenta u sklopu inicijalne dijagnostike, kao i tokom celokupnog terapijskog tretmana. Funkcionalnost pacijenta predstavlja sposobnost pacijenta da

izvodi određene dnevne aktivnosti bez pomoći drugih ljudi, i determinisana je njegovim performantnim statusom (PS) (Oken i sar., 1982).

Postoje dve skale koje se najčešće koriste za procenu performantnog statusa pacijenta (Tabela 1). ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) skala ima rangove od 0-4, gde skor 0 označava da je pacijent potpuno funkcionalan i asimptomatski, dok skor 4 označava pacijenta koji je vezan za krevet. Druga skala koja se koristi je Karnofski skala, koja ima rangove od 10 (umirući pacijent) do 100 (pacijent bez limitacija) (Oken i sar., 1982).

PS skale se koriste u lekarskoj proceni stanja pacijenta, u odabiru optimalnog standardnog tretmana lečenja, kao i u mogućnosti uključivanja pacijenta u klinička istraživanja. Što je PS niži, lošija je prognoza, odnosno kraće je preživljavanje pacijenta. Tako pacijenti sa PS skorom 0 ili 1 po ECOG skali, odnosno pacijenti sa PS skorom iznad 70 po Karnofski skali, mogu dobiti inicijalno celokupni terapijski tretman ili biti uključeni u klinička istraživanja. Kako se PS pacijenta menja tokom vremena, tako se menja i odabir terapije pacijenta (Oken i sar., 1982; Peus i sar., 2013).

Tabela 1. Prikaz funkcionalnog statusa i vrednosti skora performantnog statusa pacijenta primenom ECOG i Karnofski skale.

ECOG SKALA		KARNOFSKI SKALA	
0	Normalna aktivnost, bez restrikcija.	100	Normalno; bez evidencije bolesti.
		90	Sposobnost izvođenja normalnih aktivnosti sa minimalnim simptomima.
1	Simptomatski; ambulantna nega; restrikcija u fizički napornim aktivnostima; mogućnost lakšeg rada u kući i na poslu.	80	Normalna aktivnost sa naporom; neki simptomi.
		70	Sposobnost brige o sebi, ali nemogućnost normalnih aktivnosti.
2	Sposobnost brige o sebi; nemogućnost rada; ambulantna pomoć u > 50% vremena; povremeno tuđa pomoć.	60	Povremeno tuđu pomoć; samostalna briga o većini potreba.
3	Limitirana briga o sebi; ambulantna pomoć u $\leq 50\%$ vremena; stručna medicinska pomoć potrebna.	50	Zahteva ozbiljnu pomoć.
		40	Nesposobnost; zahteva specijalnu pomoć.
		30	Teška nesposobnost.
4	Pacijent u krevetu.	20	Vrlo bolestan; zateva aktivan suportivni tretman.
		10	Umirući pacijent.
5	Smrt.	0	Smrt.

1.1.4. Terapija

Standardni najčešće primenjivani terapijski protokol za pacijente sa novodijagnostikovanim GBM tumorom podrazumeva primenu hirurške resekcije praćene konformalnom radioterapijom i oralnom konkomitantnom i adjuvantom hemioterapijom temozolomidom (Weller i sar., 2017).

Hirurški tretman jeste najčešća forma terapije pacijenata sa tumorima mozga, uključujući i pacijente sa GBM tumorima, i predstavlja izuzetno važan inicijalni aspekt terapije. Kako odluka o tretmanu pacijenta zavisi od patohistološke dijagnoze i procene statusa određenih molekularnih markera, hirurški tretman se primenjuje sa dijagnostičkim i terapijskim ciljem. Indikacije za hirurgiju tumora mozga uključuju: redukciju tumorskih granica, odnosno veličine tumora, ublažavanje kompresivnog efekta tumora na okolne strukture moždanog parenhima, kontrolu epileptičnih napada i redukciju neurološkog deficita, dobijanje patohistološke dijagnoze, preusmeravanje toka likvora plasiranjem šantova u određenim slučajevima, kao i uvođenje lokalnih antineoplastičnih agenata (Newton i sar., 2007).

Cilj hirurške resekcije lezija jeste da se ukloni što veći deo promene, posebno njena agresivna komponenta, sa minimumom funkcionalnog deficita, tj. sa poštedom elokventnih zona – korteksa i traktova bele mase mozga, a sve zarad poboljšanja kvaliteta i/ili kvantiteta života pacijenta. Hirurške tehnike imaju za cilj da što preciznije delineiraju margine tumora i da sačuvaju okolne strukture elokventnog moždanog tkiva, kao što su motorni korteks, centar za govor i vidne funkcije, kao i da delineiraju važne vaskularne strukture mozga. Kompletna hirurška resekcija GBM tumora je optimalan hirurški tretman za pacijente, i, iako nije kurativna metoda, ona obezbeđuje poboljšanje neurološkog statusa pacijenta, duže vremenske intervale bez tegoba i produžava vreme preživljavanja pacijenata (Newton i sar., 2007).

Međutim, zbog infiltrativnog rasta GBM tumora, kompletan hirurški tretman tumora je praktično neizvodljiva, te je posthirurška primena radioterapije i hemioterapije neophodna (Louis i sar., 2007; Newton i sar., 2007).

Fokalna radioterapija je pogodan oblik lečenja za sve forme visokogradusnih tumora mozga, uključujući i GBM tumore. Mnogobrojne studije su pokazale da se primenom hirurške resekcije i postoperativne zračne terapije produžava sveukupno preživljavanje pacijenata sa visokogradusnim tumorima mozga (Louis i sar., 2007; Newton i sar., 2007).

Cilj radioterapije kod pacijenata sa glijalnim tumorima mozga jeste da se uspostavi lokalna kontrola tumora sa prihvatljivim odnosom rizik-benefit za pacijenta, imajući u vidu i štetne efekte zračenja. U zavisnosti od: godina pacijenta, performantnog skora i ekstenzivnosti hirurške resekcije tumora, zavisiće i: vreme, doza i raspored zračenja pacijenta. U zavisnosti od tumorskog tipa i gradusa tumora, koji determinišu prognozu pacijenta, primenjuje se fokalna radioterapija, najčešće u dozama od 50-60 Gy u frakcijama od 1.8-2 Gy/dan (Louis i sar., 2007; Newton i sar., 2007).

Mehanizam dejstva primenjene radioterapije, koji dovodi do radijacijom indukovane neurotoksičnosti, obuhvata: oštećenje krvnih sudova, direktno oštećenje glijalnih ćelija bele mase mozga, tj. oligodendrocita, efekat fibrinolitičkog enzimskog sistema, kao i dejstvo imunih mehanizama, poput autoimunog vaskulitisa (Pružincova i sar., 2009). Oštećenje krvnih sudova indukovano zračenjem dovodi do: nekroze zidova krvnih sudova, vaskularnih ektazija i telangiektazija, što utiče na povećanu permeabilnost krvnih sudova i posledičnu pojavu vazogenog edema. Progresivna vaskularna oštećenja nadalje dovode od zadebljanja zidova krvnih sudova sa razvojem tromboze i infarkcije, te sa posledičnim razvojem nekroze parenhima mozga. Oštećenje oligodendrocita dovodi do demijelinizacije neurona i astrocitne glioze, dok fibrinolitički enzimski sistem doprinosi razvoju citotoksičnog edema i nekroze tkiva. Stoga se multipli fokusi nekroze moždanog parenhima javljaju perivaskularno unutar bele mase mozga u vidu ekstenzivnih i konfluentnih, „geografskih“ zona koagulativne parenhimske nekroze (Brandsma i sar., 2008; Brandsma i sar., 2009; Pružincova i sar., 2009).

Iako je dosadašnjim naučnim istraživanjima ustanovljeno da posthirurška primena iradijacione terapije ima izvesnog uticaja na sveukupno preživljavanje obolelih, život

pacijenata sa GBM tumorom mozga se značajno produžava primenom konkomitantnog i adjuvantnog temozolomida, kao oralne citostatske hemioterapije, ali se, takođe, produžava i vreme bez progresije bolesti (Stupp i sar., 2005; Newton i sar., 2007; Taylor i sar., 2015).

Naime, temozolomid, kao oralni alkilirajući agens dovodi do apoptoze tumorskih ćelija tako što vrši alkilaciju (metilaciju) na O⁶ poziciji aminokiseline guanin, čime se stvara O⁶-metilguanin. Tokom replikacije DNK tumorske ćelije O⁶-metilguanin se spaja sa timinom umesto sa citozinom, i stvara se O⁶-metilguanin-timin koji biva prepoznat kao greška od postreplikacionog reparatornog sistema. DNK reparatorni protein prisutan kod glioma je enzim O⁶-metilguanin DNK metiltransferaza (MGMT). Aktivna MGMT, koja nastaje od nemetilisanog MGMT promotera (gena na hromozomu 10q26), uklanja alkilnu grupu sa O⁶ pozicije guanina i time dovodi do reparacije DNK tumorske ćelije, onemogućavajući citotoksični efekat alkilirajućih agenasa. U slučaju postojanja (hiper)metilacije MGMT promotera, sam MGMT enzim je neaktivan, čime se blokira transkripcija proteina i narušava reparacija DNK tumorske ćelije, a maligne ćelije postaju osetljivije na citotoksično dejstvo alkilirajućih agenasa (Stupp i sar., 2005; Taylor i sar., 2015).

Kod oko 40% pacijenata sa GBM tumorom MGMT promoter je metilisan, dok je kod 60% pacijenata MGMT promoter nemetilisan. Kod pacijenata sa GBM tumorom mozga koji imaju metilisani MGMT promoter dobar terapijski učinak alkilirajućih agenasa uslovljava duže preživljavanje pacijenata, za razliku od onih koji imaju nemetilisani MGMT promoter (Fukushima i sar., 2009; Aldea i sar., 2014; Taylor i sar., 2015; Baritchii i sar., 2016).

Pored direktnog toksičnog efekta na tumorske ćelije, primenjena hemioterapija ima isti uticaj i na aksone neurona i na oligodendrocite, a dovodi i do: sekundarnih imunoloških reakcija, oksidativnog stresa i mikrovaskularnih oštećenja. Aksonopatija i neinflamatorna demijelinizacija neurona se karakterišu pojavom milijarne distribucije lezija sa prisustvom od malih kružnih fokusa do velikih konfluentnih zona nekroze bele mase mozga (Pružincová i sar., 2009).

Razvijeni terapijski protokoli su produžili vreme do početka ravoja progresije bolesti i celokupno preživljavanja pacijenata sa GBM tumorima mozga. Pored toga, ekstenzivnost hirurške resekcije, doze i režim primene zračne terapije, kao i primena hemioterapije temozolomidom predstavljaju i prognostičke determinante za pacijente obbolele od GBM tumora (Ricard i sar., 2012; Peponi i sar., 2014; Young i sar., 2015; Eleni i sar., 2016).

Imajući u vidu da je preživljavanje pacijenata sa GBM tumorima mozga koji su primili optimalan terapijski tretman i dalje nisko, i iznosi u proseku oko 14 meseci, i dalje se razvijaju novi terapijski modaliteti, kao što je molekularna terapija sa targetiranim mehanizmom aktivnosti na transformisani fenotip pacijenata sa tumorima mozga (Newton i sar., 2007).

1.2. Terapijske sekvele

Postoperativna primena radioterapije i konkomitantne i adjuvantne hemioterapije temozolomidom kod pacijenata sa visokogradusnim GBM tumorima mozga uslovila je pojavu fokalnih terapijskih sekvela koje mogu biti imitatori rekurentnog tumora, a u koje se svrstavaju pseudoprogresija i radijaciona nekroza (Brandsma i sar., 2008; Brandsma i sar., 2009; Pružincova i sar., 2009; Pecchia i sar., 2015).

Rekurenti GBM tumor predstavlja recidiv visokogradusnog tumora, koji se kao takav patohistološki karakteriše: ćelijskim i jedarnim pleomorfizmom, učestalim mitozama, vaskularnom trombozom, mikrovaskularnom proliferacijom, odnosno neoangiogenezom, i nekrozom. Recidiv GBM tumora je progresivna lezija, koja je, po pravilu, klinički simptomatska, te zahteva specifični vid onkološkog lečenja pacijenta.

Međutim, standardi za terapiju pacijenata sa rekurentnim GBM tumorom mozga nisu još uvek ustanovljeni. Klinička odluka o novom terapijskom tretmanu je uslovljena: ranije primenjenom terapijom, godinama pacijenta, performantnim statusom pacijenta, kao i obrascom progresije tumora. Hirurška reoperacije se sprovodi kod oko

20-30% simptomatskih pacijenata i to najčešće kod onih kod kojih je prošlo više od 6 meseci od inicijalne hirurgije. Primena reiradijacije je i dalje kontraverzna. Tako se u zračnom tretmanu najčešće primenjuju stereotaksična hipofrakcionisana radioterapija sa totalnom dozom od 30-36 Gy, ili čak radiohirurgija sa pojedinačnom dozom od 15-20 Gy. Ipak, najveći doprinosu u tretmanu pacijenata je dala hemioterapija. Nakon inicijalne terapije temozolomidom, indicovana je primena antiangiogene terapije GBM tumora korišćenjem nitrosoureas i bevacizumab lekova. U završnoj fazi bolesti indicovane su suportivna ili palijativna terapija (Weller i sar., 2017).

Pseudoprogresija predstavlja ranu terapijsku sekvelu koja se javlja kod pacijenata sa GBM tumorima unutra 3 meseca od primenjene postoperativne radioterapije i hemioterapije citostatikom temozolomidom. Karakteriše se: razvojem inflamacije, povećanom permeabilnošću hemato-encefalne barijere i pojavom edema (Brandsma i sar., 2008; Brandsma i sar., 2009).

Pseudoprogresija tumora može biti klinički asimtomatska (65%) ili ređe simptomatska (35%). Po pravilu se lezije javljaju oko periventrikularne bele mase mozga i u regiji korpusa kalozuma. Stoga, ako lezije svojom veličinom i kompresivnim efektom dovedu do kompromitacije protoka likvora kroz komorni sistem mozga, mogu dati simptome pacijentu (Brandsma i sar., 2008; Brandsma i sar., 2009).

Pseudoprogresija kod pacijenata sa GBM tumorom može: stagnirati tokom vremena, regredirati unutar 3-6 meseci, a retko može progredirati u pravu radijacionu nekrozu. Kako je pseudoprogresija najčešće reverzibilna terapijska sekvela, ona po pravilu zahteva samo praćenje pacijenta ili eventualnu primenu simptomatske terapije kod pacijenata sa simptomima (Brandsma i sar., 2008; Brandsma i sar., 2009).

Radijaciona nekroza predstavlja kasnu terapijsku sekvelu koja se javlja kod pacijenata sa GBM tumorima mozga nakon 3-12 ili više meseci od primenjene radioterapije. Lezija se javlja kod oko 25% pacijenata sa gliomima mozga kod kojih je primenjena radioterapija, i to u zoni zračenja moždanog tkiva. Veća učestalost razvoja radijacione nekroze uslovljena je: većom dozom zračenja, većim brojem frakcija

zračenja na dan, primenom stereotaksične radioterapije i kombinovanom primenom radio- i hemioterapije (Pružincova i sar., 2009; Shah i sar., 2017).

Radijaciona nekroza predstavlja reakciju lokalnog tkiva na primenjenu radioterapiju koja utiče na: krvne sudove, glijalne ćelije i fibrinolitički enzimski sistem. Efekti radioterapije dovode do: nekroze zida krvnih sudova, do vaskularnih ektazija i telangiektazija, do povećane permeabilnosti krvnih sudova i razvoja vazogenog edema, te do endotelijalnog zadebljanja, tromboze i okluzije krvnih sudova. Navedeno rezultira razvojem infarkta tkiva mozga sa razvojem glioze i aktivacijom fibrinolitičkog enzimskog sistema, što dovodi do citotoksičnog edema i nekroze tkiva (Pružincova i sar., 2009).

Kao i pseudoprogresija, radijaciona nekroza se javlja u zoni periventrikularne bele mase i korpusa kalozuma, i može biti klinički asimptomatska ili simptomatska. Takođe, kao i pseudoprogresija, radijaciona nekroza može vremenom da: stagnira, regredira ili progredira. Ukoliko je simptomatska, zahteva primenu simptomatske terapije ili eventualne hirurške resekcije, i to ukoliko svojom veličinom i kompresivnim efektom ugrožava život pacijenta (Pružincova i sar., 2009; Shah i sar., 2017).

S obzirom da i rekurentni GBM tumori i terapijske sekvele mogu biti klinički identični, asimptomatski ili simptomatski, neophodna je primena neuroradiološkog pregleda endokranijuma. Značaj diferenciranja rekurentnih GBM tumora od terapijskih sekvela ogleda se u drugačijem terapijskom pristupu. Dok rekurentni progresivni tumor zahteva reoperaciju ili drugačiji tretman specifičnog onkološkog lečenja, terapijske sekvele zahtevaju najčešće samo praćenje pacijenta ili primenu simptomatske farmakoterapije (Fink i sar., 2011).

1.3. Magnetno-rezonantni imidžing i radiološki prikaz glioblastoma

Na radiološkim prikazima metodom kompjuterizovane tomografije (computed tomography, CT), kao inicijalnom dijagnostičkom procedurom, GBM se vidi kao ekspanzivno-infiltrativna lezije sa centralnom nekrozom i perifernim iregularnim

solidnim rubom koji je postkontrastno intenzivno pojačava u denzitetu. Lezija se odlikuje naglašenim perilezionim edemom i kompresivnim efektom na okolinu. Intraleziono se mogu uočiti zone hemoragije, dok su kalcifikacije ređe prisutne i obično se javljaju kod sekundarnih GBM tumora (Newton i sar., 2007).

Iako je CT pregled endokranijuma inicijalna radiološka dijagnostika patologije centralnog nervnog sistema, metoda izbora za dijagnostiku GBM tumora predstavlja magnetno rezonantni pregled (magnetic-resonance imaging, MRI) endokranijuma.

MRI predstavlja suverenu metodu u dijagnostici, izboru terapije i praćenju stanja pacijenta sa patološkim promenama centralnog nervnog sistema. Dok se CT pregled odlikuje velikom brzinom, širokom dostupnošću i relativno niskim troškovima izvođenja, MRI pokazuje veću osetljivost u prikazu mekotkivnih struktura sa superiornijom kontrastom rezolucijom, daje mogućnosti multiplanarnog prikaza analiziranih struktura i ne zahteva primenu štetnog jonizujućeg X zračenja, već koristi radiofrekventne talase (Newton i sar., 2007).

1.3.1. Konvencionalni MRI

Standardni protokol konvencionalnog MRI pregleda endokranijuma podrazumeva primenu konvencionalnih T2-otežanih prikaza (T2-weighted imaging, T2WI) i T1-otežanih prikaza (T1-weighted imaging, T1WI), odnosno T2W i T1W sekvencija, u aksijalnoj, koronarnoj i sagitalnoj ravni. Dok su konvencionalne T2W sekvencije senzitivnije u prikazu patoloških promena, na T1W sekvencijama se bolje uočavaju anatomske detalje (Newton i sar., 2007).

Cilj primene konvencionalnih MRI tehnika jeste neinvanzivan prikaz makroskopskih karakteristika lezije. Radiološka dijagnoza se postavlja nakon: detekcije lezije, određivanja lokalizacije i broja lezija, određivanja intenziteta signala pre i nakon primene paramagnetnog kontrastnog sredstva, kao i na osnovu prisustva perilezionog edema i kompresivnog efekta patološke promene.

Najveći broj lezija pokazuje povišen intenzitet signala (hiperintenzno) na T2WI i snižen intenzitet signala (hipointenzno) na T1WI. Izuzeci postoje. Ukoliko je lezija hipercelularna, sa visokim odnosom jedro/citoplazma, i sadrži malo vode, ukoliko sadrži krv u hroničnoj fazi evolucije (hemosiderin), proteine/koloid, melanin i kalcifikacije, kao i ako poseduje tekuću krv, ona će se prikazati kao hipointenzna na T2W sekvenciji. Ukoliko patološka promena sadrži krv u subakutnoj fazi evolucije (methemoglobin), visok nivo proteina, melanin, mast/holesterol, kalcifikacije ili paramagnetne katjone (Cu, Mn i dr.), ona će se na prekontrastnoj T1W sekvenciji prikazati povišenim intenzitetom signala. Posebna vrsta T2W sekvencije je tzv. fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR) sekvencija, koja anulira signal tečnosti zadržavajući T2W signal ostalih molekula, a primenjuje se u cilju isticanja patoloških procesa koji su lokalizovani neposredno uz likvorske prostore u mozgu, odnosno kortikalno, subkortikalno i periventrikularno. Najveći broj lezija je FLAIR hiperintenzno (Newton i sar., 2007).

Intravenska primena paramagnetnog kontrastnog sredstva (gadopentetate dimeglumine, Gd) i dobijanje postkontrastnih trodimenzionalnih T1W prikaza indikovana je kod kliničke sumnje na: inflamaciju, infekciju ili tumorsku leziju mozga, a za koje se može očekivati postkontrastno pojačanje intenziteta signala usled oštećenja hematoencefalne barijere (Newton i sar., 2007).

Na konvencionalnom MRI mozga, GBM tumor se prikazuje kao heterogena ekspanzivno-infiltrativna lezija sa centralnom nekrozom i debelim i iregularnim rubom solidnog tkiva, sa naglašenim perilezionim edemom i kompresivnim efektom na susedne moždane strukture. Centralna zona nekroze je ispunjena tečnim sadržajem koji je hiperintenzan na T2W, a hipointenzan na T1W prikazima. Periferni solidni deo lezije je dominantno T2W hiperintenzan i T1W hipointenzan, kao i perilezioni vazogeni edem, koji je ipak nešto nižeg intenziteta signala u odnosu na tumorsko tkivo. Prisustvo naglašenog vazogenog edema uslovljeno je prisustvom patološki izmenjenih neoplastičnih krvnih sudova, koji su tortuozni, permeabilni i fragilni, te koji povećavaju transudaciju tečnosti i proteina u ekstracelularni prostor, a mogu dovesti i do intralezione hemoragije. Na postkontrastnim T1W prikazima, lezija se rubno pojačava u

intenzitetu signala, odnosno solidni deo lezije se opacifikuje, za razliku od zone nekroze i perilezionog edema. Rubna zona postkontrastnog pojačanja intenziteta signala ne predstavlja istovremeno i spoljašnju granicu GBM tumora, jer je poznato da su tumorske ćelije kod infiltrativnog visokogradusnog tumora prisutne i u zoni edema, najčešće u margini od 2 cm, a ređe i van nje (Newton i sar., 2007).

Sem u inicijalnoj dijagnostici, MRI pregled endokranijuma indikovao je i u ranom postoperativnom tretmanu pacijenata sa GBM tumorima mozga unutar 72 sata od operacije, u cilju baznog monitoringa i rane detekcije resta tumora, kao i rutinski na svaka 3 meseca, a po potrebi i ranije (Weller i sar., 2017).

1.3.2. Napredne MRI tehnike

Iako su konvencionalne T2W i T1W sekvencije, kao i postkontrastni T1WI, esencijalni deo MRI pregleda, one onemogućavaju precizno gradiranje tumora i jasnu diferencijaciju tumorskih margina, odnosno granicu između neoplastičnih ćelija i perilezionog edema. Naspram anatomske makroskopske analize lezija mozga, koju omogućavaju konvencionalne MRI sekvencije, razvoj naprednih MRI tehnika je omogućio *in vivo* analizu fizioloških odlika tkiva, odnosno neinvazivnu mikroskopsku analizu lezije (Newton i sar., 2007).

U napredne MRI tehnike se svrstavaju: difuzijski otežani prikazi (diffusion-weighted imaging, DWI), prikazi susceptibilnosti (susceptibility-weighted imaging, SWI), protonska magnetno-rezonantna spektroskopija (proton magnetic resonance spectroscopy, ¹H-MRS), perfuzijski otežani prikazi (perfusion-weighted imaging, PWI), difuzijski tenzor prikazi (diffusion-tensor imaging, DTI) i funkcionalni MR prikazi (functional magnetic resonance imaging, fMRI) (Newton i sar., 2007).

Napredne MRI tehnike se primenjuju u cilju diferencijalne dijagnostike, izbora odgovarajućeg terapijskog tretmana, kao i postterapijskog praćenje pacijenta. One su ključne, ne samo u detekciji lezije, već i u određivanju tipa i gradusa tumora i evaluaciji stepena njegove ekstenzije. Pored toga, one mogu da usmere terapijski tretman

ukazujući na zone tumora koje su optimalne za stereotaksičnu biopsiju ili da ukažu na udaljenost lezije od važnih puteva bele mase i elokventnih kortikalnih centara u cilju planiranja ekstenzivnosti hirurške resekcije. Takođe, napredne MRI tehnike omogućavaju postterapijsko praćenje pacijenata i mogu da diferenciraju rekurente tumore od terapijskih sekvela kao što su: pseudoprogresija, pseudoodgovor i radijaciona nekroza, kao i da procene odgovor tumora na primenjenu terapiju (Newton i sar., 2007; Essig i sar., 2012; Kim i sar., 2016).

Dok se DWI, PWI i $^1\text{H-MRS}$ primenjuju u dijagnostici, izboru terapije i praćenju stanja pacijenta sa lezijom mozga, DTI i fMRI se najčešće primenjuju u cilju izbora optimalnog terapijskog tretmana.

1.3.2.1. DWI

DWI je napredna MRI tehnika koja omogućava neinvazivnu, *in vivo* kvantitativnu analizu stepena difuzije slobodnih molekula vode unutar tkiva. Njene vrednosti zavise od kvantiteta i kvaliteta intracelularnog i ekstracelularnog prostora. Kako je kretanje molekula vode inicijalno uslovljeno prirodnim preprekama anatomskih struktura tkiva, kao što su ćelijske membrane, makromolekuli i aksonalni snopovi, tako se parametar stepena difuzije molekula unutar ljudskog organizma označava prividnim difuzijskim koeficijentom (apparent diffusion coefficient, ADC).

Veličina i sastav intracelularnog i ekstracelularnog prostora u patološkim stanjima uslovljavaju povećanu (nerestriktivnu, olakšanu, komfornu) ili smanjenu (restriktivnu) difuziju molekula. Tako se npr. nerestriktivna difuzija javlja kod gubitka neurona usled infarkta mozga, čime se povećava veličina ekstracelularnog prostora, a restriktivna difuzija kod umnožavanja tumorskih ćelija, kada se smanjuje veličina ekstracelularnog prostora kroz koji se kreću molekuli (Hagmann i sar., 2006; Newton i sar., 2007).

Po pravilu, visokogradusni tumori, kao što je GBM, pokazuju restriktivnu difuziju sa niskim ADC vrednostima ($< 750 \text{ mm}^2/\text{s}$). Razlog za to su hipercelularnost tumora i reaktivna astrogliozna i edem, koji zajedno smanjuju veličinu ekstracelularnog prostora i

time redukuju brzinu difundovanja molekula. Ipak, najveći broj tumora pokazuje nerestriktivnu difuziju sa visokim ADC vrednostima, i to usled oštećenja neurona, odnosno aksona, i infiltrativnog rasta tumora (Newton i sar., 2007).

1.3.2.2. SWI

SWI predstavlja visokorezolutivnu MRI tehniku kojom se prikazuju male intrakranijalne vene i produkti krvi, odnosno mikrohemoragije. Njen kontrast se bazira na razlici u susceptibilnosti prikazanih struktura. Ona omogućava jasan prikaz vaskularnih promena u kojima je spor protok krvi u venulama i kapilarima (deoksigenisana krv), kao i detekciju paramagnetnih fokusa u tkivima, kao što su produkti krvi i depoziti kalcijuma (Tong i sar., 2008; Schweser i sar., 2010).

SWI omogućava neinvazivnu analizu mikrovaskularizacije tumora, te gradiranje glioma, imajući u vidu da se visokogradusni tumori karakterišu nekrozom i hemoragijom koja je uslovljena neovaskularizacijom. Povećana metabolička aktivnost i potrošnja kiseonika kod neoplastičnih ćelija visokogradusnih tumora mogu dovesti do povećanja vrednosti deoksihemoglobina u vaskularnoj mreži, te do smanjenja intenziteta signala na SWI. Dok angiografske studije prikazuju arterijsku podršku visokogradusnih tumora sa neovaskularizacijom, SWI može prikazati arhitekturu i gustinu venskih krvnih sudova i kapilara unutar i oko tumora (Haacke i sar., 2009; Mittal i sar., 2009; Park i sar., 2010; Lupo i sar., 2013).

1.3.2.3. ¹H-MRS

¹H-MRS je napredna MRI tehnika koja omogućava neinvazivan uvid u *in vivo* metabolizam tkiva, odnosno njegov biohemijski profil.

Metaboliti koji se rutinski posmatraju pri evaluaciji moždanog tkiva su: N-acetilaspargat (N-acetylaspartate, NAA; pik na 2.0 ppm (parts per million)), holin (choline, Cho; pik na 3.2 ppm), kreatin (creatine, Cr; pik na 3.0 ppm), mioinozitol (myo-inositol, mI; pik na 3.5 ppm), laktati (lactate, Lac; pik na 1.3 ppm), lipidi (lipids,

Lip; pik na 0.9-1.4 ppm). NAA je marker neurona, čije smanjene vrednosti ukazuju na disfunkciju ili destrukciju nervnih ćelija. Cho, kao marker stanja ćelijske membrane, biva povišen kod: neoproliferacije, astroglioze i mikroglijalne proliferacije. Cr determiniše energetske metabolizam, i može biti smanjen kod destrukcije neurona ili povišen kod maligne transformacije ćelije. ml je marker glijalnih ćelija koji je povišen kod niskogradusnih, a snižen kod visokogradusnih tumora. Lac su pokazatelji prisustva anaerobnog metabolizma i prisutni su kod nekrotičnih ili cističnih lezija, kao i kod visokogradusnih tumora. Prisustvo Lip pika ukazuje na moždanu destrukciju, odnosno nekrozu koja je karakteristična za visokogradusne tumore. Najčeće evaluirani metabolički odnosi su Cho/Cr (normalno 1.2, patološki > 1.5), Cho/NAA (normalno 0.6, patološki > 0.8) i Cr/NAA (normalno 0.5, patološki > 0.6) (Newton i sar., 2007).

Na osnovu kvantitativnih vrednosti odnosa metabolita u normalnom i patološki izmenjenom tkivu omogućena je diferencijacija fokalnih lezija, odnosno gradiranje makroskopski vidljivih tumora, kao i određivanje prisustva tumorske infiltracije van granica vidljive promene na konvencionalnom MRI. Vrednosti metabolita dobijeni MRS metodom omogućavaju i targetiranje dela lezije za izvođenje biopsije, što je posebno značajno kod heterogenih glioma (Newton i sar., 2007).

Za visokogradusne tumore, uključujući i GBM, tipično je povišena vrednost Cho uz prisustvo Lip i Lac pikova, dok su NAA i Cr smanjeni. Što je manja vrednost odnosa NAA/Cr, a veća vrednost odnosa Cho/Cr metabolita, to je veći gradus tumora. Tako vrednost metaboličkog odnosa Cho/Cr veća od 1.5 predstavlja graničnu vrednost u diferencijaciji niskogradusnih od visokogradusnih tumora (Devos i sar., 2005; Newton i sar., 2007).

MRS tehnika se može izvoditi kao singl-voksel spektroskopija (single voxel spectroscopy, SVS) ili multivoksel spektroskopija (chemical shift imaging, CSI) sa kratkim vremenom eha (time of echo, TE=30 ms) ili sa srednjim vremenom eha (TE=135 ms). Generalno pravilo je da se SVS tehnika primenjuje pri inicijalnoj dijagnostici, s obzirom da je visok odnos signala i šuma (signal to noise ratio, SNR) i da se prikazuju svi metaboliti. Sa druge strane, CSI tehnika se primenjuje u daljnjoj

karakterizaciji patološki izmenjene regije, u analizi perilezionog tkiva sa ciljem određivanja propagacije lezije, kao i u određivanju odgovora tumora na primenjenu terapiju, odnosno diferencijaciju rest-recidiva tumora od terapijskih sekvela (Newton i sar., 2007; Sundgren, 2009; Bobek-Billewicz i sar., 2010).

1.3.2.4. PWI

PWI je napredna MRI tehnika koja omogućava neinvazivnu *in vivo* kvantitativnu i kvalitativnu analizu vaskularizacije tkiva. PWI determiniše hemodinamski status tkiva na mikrovaskularnom nivou. Može se izvoditi kao egzogena ili endogena metoda.

Tehnika kontrasta dinamičke susceptibilnosti (Dynamic Susceptibility Contrast Enhanced, DSCE ili DSC) predstavlja egzogenu metodu PWI koja zahteva intravensku primenu duple doze paramagnetnog Gd kontrastnog sredstva (0,2 mmol/kg) uz pomoć automatskog injektora visokom brzinom (3-7 ml/s). DSC tehnika perfuzije se bazira na primeni brzih sekvencija, obično eho planarnih prikaza (echo planar imaging, EPI), koje omogućavaju akviziciju do 50 uzastopnih slika u toku prolaska bolusa kontrastnog sredstva za vreme od oko 70 s. Pri prolasku bolusa kontrastnog sredstva kroz kapilarne krvne sudove dolazi do privremenog gubitka signala tkiva usled T2* efekta Gd-kontrasta, tzv. efekat magnetne susceptibilnosti. Gubitak signala tkiva proporcionalan je koncentraciji kontrastnog sredstva u tkivu. Praćenjem promene intenziteta signala tkiva dobija se hemodinamska kriva, takozvana kriva zavisnosti intenziteta signala od vremena (Arterial Input Function, AIF kriva). Na osnovu AIF krive, softverski se generišu perfuzione mape: relativnog cerebralnog protoka (relative cerebral blood flow, rCBF), relativne cerebralne zapremine (relative cerebral blood volume, rCBV), kao i srednjeg tranzitnog vremena (mean transite time, MTT). rCBF predstavlja brzinu predavanja Gd-kontrastnog sredstva specifičnoj masi (ml min⁻¹/100g). rCBV ukazuje na zapreminsku distribuciju Gd-kontrastnog sredstva u toku prvog prolaska kontrastnog sredstva kroz tkivo (% ili ml/100g). MTT je srednje vreme prolaska Gd-kontrastnog sredstva kroz tkivo i određuje se kao količnik rCBV i rCBF vrednosti ($MTT = rCBV / rCBF$). Vaskularizacija tkiva se kvantifikuje preko: CBV, CBF i MTT parametara (Knutsson i sar., 2010; Thomsen i sar., 2012; Roy i sar., 2013).

Za razliku od klinički utvrđene DSC tehnike perfuzije, tehnika magnetnog obeležavanja spinova u arterijama (Arterial Spin Labeling, ASL) predstavlja endogenu metodu PWI koja je još uvek u razvoju (Detre i sar. 1999; Detre i sar., 2009; Pollock i sar., 2009; Grade i sar., 2015).

Naime, ASL je potpuno neinvazivna tehnika perfuzije koja koristi protone molekula vode kao endogene obeleživače, i to isključivo za apsolutnu kvantifikaciju CBF vrednosti (Weber i sar., 2004; Knutsson i sar., 2010). Pogodna je za primenu kod pacijenta kod kojih je intravenska aplikacija Gd-kontrastnog sredstva kontraindikovana, kao što su: trudnice, pacijenti sa bubrežnom disfunkcijom, sa oštećenim venskim krvnim sudovima (dijabetičari, onkološki pacijenti), kao i kod onih koji imaju utvrđene alergijske reakcije na Gd-kontrastno sredstvo (Detre i sar. 1999; Detre i sar., 2009; Pollock i sar., 2009).

Iako ASL predstavlja potpuno neinvazivnu tehniku, u kojoj se bez postprocesinga određuje apsolutna CBF vrednost, njene mane, kao što su visok SNR i osetljivost na pomeranje pacijenta tokom pregleda, limitiraju njenu rutinsku primenu (Detre i sar., 2009). Sa napretkom razvoja softvera MR aparata može se očekivati obećavajuća validacija ove tehnike.

Klinička primena PWI tehnika je od posebnog značaja u evaluaciji tumora mozga. Poznato je da tumor predstavlja skup izmenjenih ćelija sa nepravilnim i progresivnim rastom. Sa rastom tumora, rastu i njegove metaboličke potrebe usled ubrzanog ćelijskog rasta i proliferacije. Celularna hipoglikemija i hipoksija dovode do stvaranja citokina angiogeneze, čime nastaje kompleksna mreža patoloških krvnih sudova u peritumorskom prostoru, a usled čega dolazi i do porasta zapremine i protoka krvi na mestu tumora. Tumorska vaskulatura, koju čine nezreli, permeabilni i tortuozni krvni sudovi, produžava put krvi kroz tumor. Pored toga, sam tumor svojim kompresivnim efektom direktno oštećuje hemato-encefalnu barijeru. Stoga gliomi višeg gradusa, po pravilu, demonstriraju zone povišenih perfuzionih parametara u poređenju sa

niskogradusnim gliomima (Warmuth i sar., 2003; Server i sar., 2011; Roy i sar., 2013; Yamashita i sar., 2013).

Pored određivanja gradusa tumora, PWI omogućava i diferencijaciju rest-recidiva tumora od pseudoprogresije, pseudoodgovora ili radijacione nekroze, kao terapijskih sekvela. Za razliku od terapijskih sekvela, recidiv visokogradusnog tumora pokazuje jasnu hiperperfuziju (Newton i sar., 2007; Barajas i sar., 2009; Bobek-Billewicz i sar., 2010; Lehmann i sar., 2010; Ozsunar i sar., 2010; Wang i sar., 2016).

1.4. MRI analiza rekurentnog glioblastoma i terapijskih sekvela

Iako je postoperativna primena različitih modaliteta radioterapije i hemioterapije produžila vreme do nastanka progresije i sveukupno preživljavanja pacijenata, ona je uslovlila i dijagnostičke teškoće u kliničkom i radiološkom diferenciranju recidiva GBM tumora od terapijskih sekvela (Brandsma i sar., 2009; Pruzincova i sar., 2009; Pecchia i sar., 2015).

Za razliku od GBM rekurencije, kod koje su prisutne celularna proliferacija i neoangiogeneza, terapijske sekvele predstavljaju inflamatornu reakciju moždanog tkiva na primenjenu radioterapiju i hemioterapiju sa povećanom permeabilnošću normalno postojeće vaskularne mreže sa posledičnim edemom, a bez neoplastičnog celularnog umnožavanja (Hygino da Cruz Jr i sar., 2011; Verma i sar., 2013). Važnost diferenciranja rekurentnog GBM tumora od terapijskih sekvela ogleda se u adekvatnom izboru terapijskog modaliteta. Pogrešna dijagnoza posledično utiče na kvalitete života, preživljavanje i konačan ishod pacijenta (Young i sar., 2015).

1.4.1. Analiza rekurentnog glioblastoma i terapijskih sekvela na osnovu konvencionalnog MRI

McDonald i RANO (The Response Assessment in Neuro-Oncology) radna grupa su bazirali kriterijume za procenu terapijskog odgovora malignih glioma na kliničkim

parametrima i nalazima na konvencionalnom MRI pregledu endokranijuma (Wen i sar., 2010; Vogelbaum i sar., 2012).

Na osnovu RANO kriterijuma, rekurentni progresivni tumor se odlikuje pojavom nove lezije sa postkontrastnim pojačanjem signala van zone radioterapije unutar 3 meseca od primenjene radioterapije, ili nakon 3 meseca od primenjene radioterapije: povećanjem veličine lezije sa postkontrastnim pojačanjem signala u zoni primenjene radioterapije za više od 25% svoje veličine, pojavom nove lezije sa postkontrastnim pojačanjem signala van zone radioterapije, ili značajnim povećanjem veličine lezije na T2W/FLAIR sekvencijama, bez postkontrastnog pojačanja signala, sa istim ili većim dozama primenjenih kortikosteroida (Wen i sar., 2010). Međutim, postkontrastno pojačanje intenziteta signala lezija je nespecifičan parametar, koji pre nastaje kao posledica oštećenja hemato-encefalne barijere, na koju utiče i primena različitih doza kortikosteroida, radioterapije i hemioterapije, nego kao posledica prisustva i stepena neovaskularizacije (Behin i sar., 2003; Warmuth i sar., 2003; Pruzincova i sar., 2009; Verma i sar., 2013; Zhang i sar., 2015). Stoga precizna diferencijacija rekurentnog GBM tumora od terapijskih sekvela nije moguća na osnovu RANO kriterijuma. Pored navedenog, limiti RANO kriterijuma predstavljaju i nemogućnost uključivanja u preciznu analizu lezija bez postkontrastnog pojačanja signala, kao i nedostatak smernica za procenu multifokalnih lezija (Essig i sar., 2012).

I rekurentni GBM tumor i terapijske sekvele mogu imati istu kliničku manifestaciju i identičan prikaz na konvencionalnom MRI endokranijuma. Oba entiteta mogu biti klinički asimptomatska ili simptomatska. Takođe, na konvencionalnom MRI sa intravenskom primenom paramagnetnog kontrastnog sredstva i rekurentni GBM tumor i terapijske sekvele se prikazuju sa povećanjem veličine i/ili stepena postkontrastnog pojačanja intenziteta signala postojećih lezija ili sa pojavom novih lezija praćenih perilezionim edemom i kompresivnim efektom na okolinu. I kod rekurentnog GBM i kod pseudoprogresije i radijacione nekroze, uočava se povećanje veličine lezije na T2W/FLAIR sekvencijama i postkontrastno rubno pojačanje intenziteta signala lezije u vidu „mehura od sapunice“ ili „švajcarskog sira“ (Brandsma i sar., 2009; Pruzincova i sar., 2009; Hygino da Cruz Jr i sar., 2011; Verma i sar., 2013;

Abdulla i sar., 2015). Stoga se jasna diferencijacija između terapijskih sekvela i rekurentnog GBM ne može postići kliničkom analizom, kao ni primenom konvencionalnog MRI endokranijuma.

1.4.2. Analiza rekurentnog glioblastoma i terapijskih sekvela na osnovu naprednih MRI tehnika

S obzirom da konvencionalni MRI onemogućava jasnu diferencijaciju između recidiva GBM tumora i terapijskih sekvela, primena naprednih MRI tehnika, kao što su: DWI, SWI, $^1\text{H-MRS}$ i PWI, je esencijalna u postterapijskom praćenju pacijenata, odnosno u razlikovanju rekurentnog GBM tumora od terapijskih sekvela (Ricard i sar., 2012; Verma i sar., 2013; Imani i sar., 2014; Ion-Margineanu i sar., 2015).

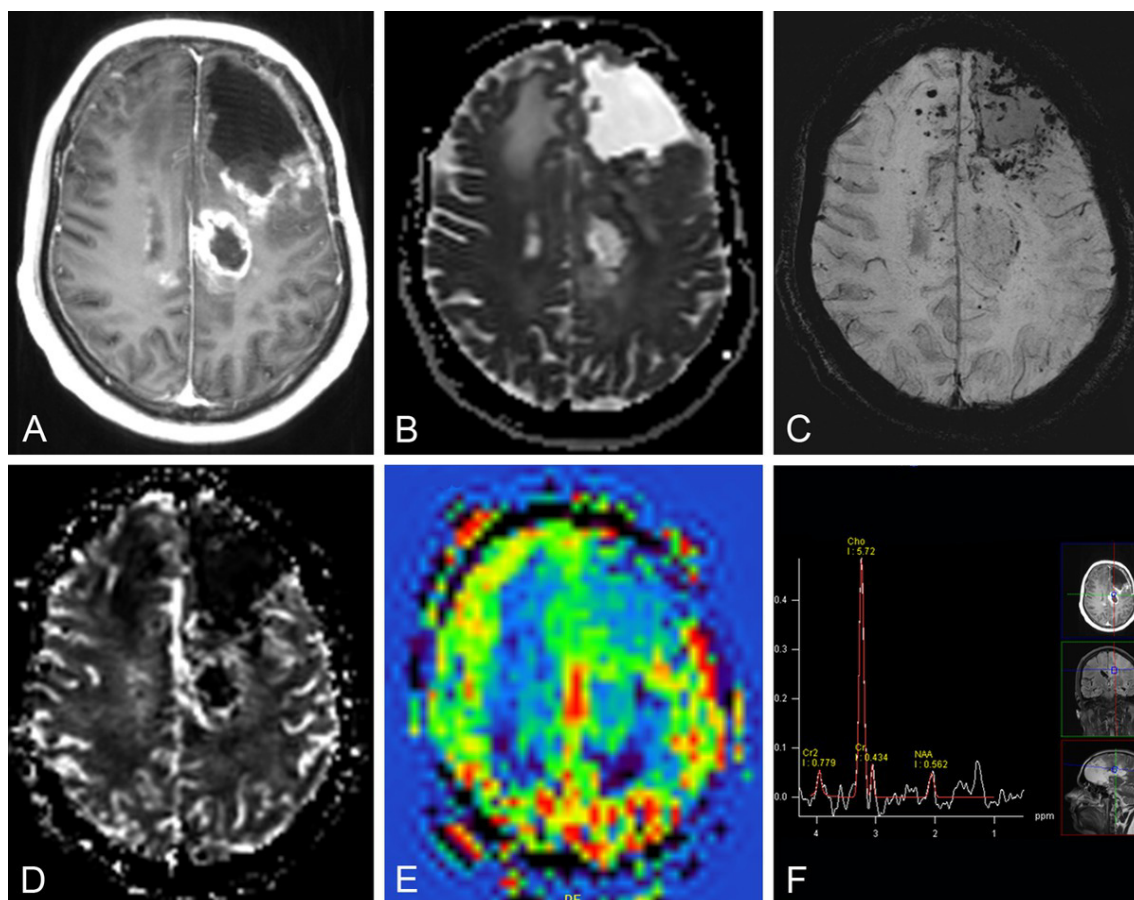
Restrikcija difuzije kod rekurentnog visokogradusnog GBM tumora, sa ADC vredostima od $0.9 - 1.1 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, uslovljena je visokom celularnošću lezije. Nasuprot toga, nerestriktivna difuzija sa visokim ADC vrednostima ($1.2 - 1.4 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$) ukazuje na nekrozu ili ćelijsku lizu koja se može videti kod terapijskih sekvela. Međutim, dešava se da je diferenciranje rekurentnog tumora od terapijskih sekvela otežano izolovanom analizom DWI parametara. Tako, ADC vrednosti mogu biti mešovite kod kombinovanog prisustva rekurentnog tumora i terapijskih sekvela u istoj zoni izmenjenog moždanog parenhima, čime se onemogućava pouzdana analiza lezije. Takođe, povećane ADC vrednosti se mogu uočiti kod recidiva GBM tumora usled mikroangiogeneze i nekroze, a smanjene ADC vrednost kod terapijskih sekvela usled: glioze, demijelinizacije i koagulacione nekroze (Sundgren i sar., 2006; Bobek-Billewicz i sar., 2010; Verma i sar., 2013).

SWI analiza se bazira na pretpostavci da su mikrovaskularizacija i mikrohemoragije zastupljenije kod rekurentnog tumora u odnosu na terapijske sekvele. Još uvek oskudna literatura o primeni SWI u diferenciranju rekurentnog GBM tumora od terapijskih sekvela uslovlja je različite pristupe u analizi nalaza na SWI, te teškoće u izolovanom analiziranju istih (Park i sar., 2010; Lupo i sar., 2013; Kim i sar., 2014).

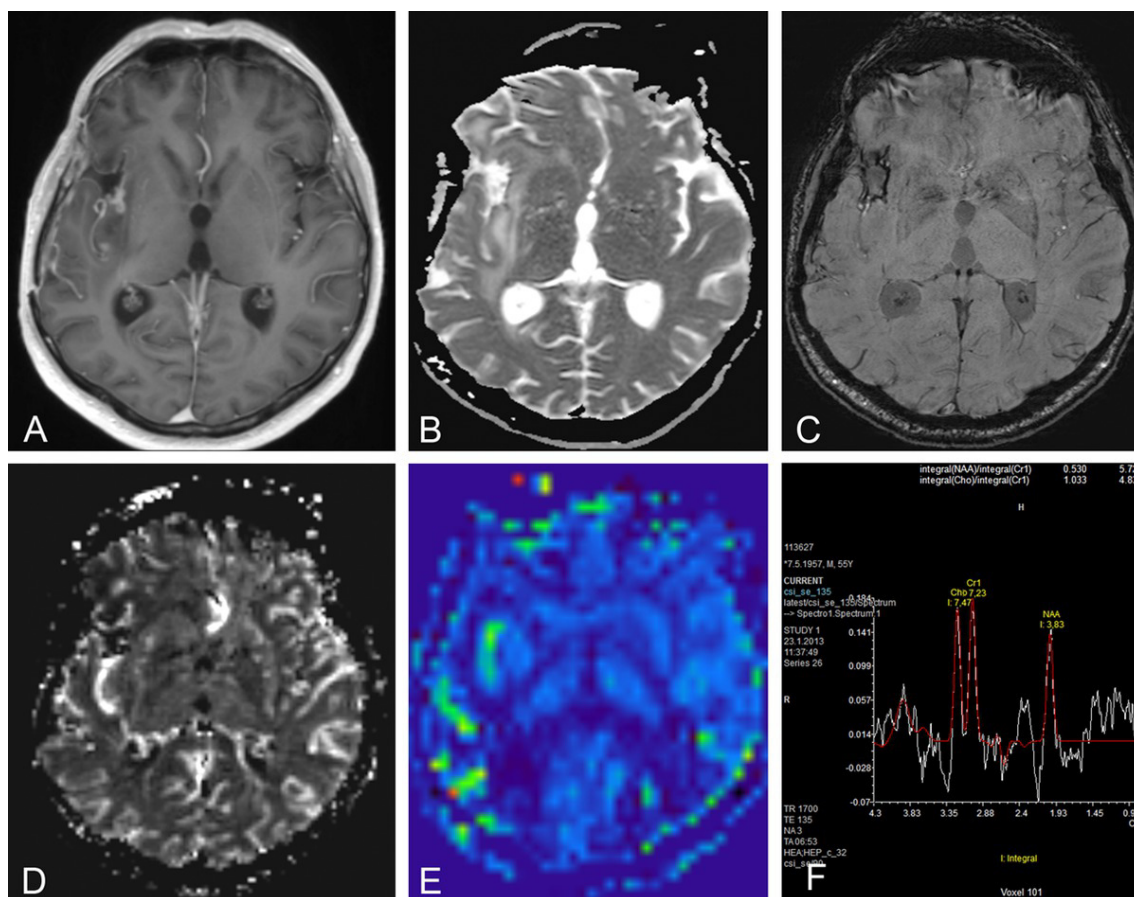
Visok odnos Cho/Cr i nizak odnos NAA/Cr na MRS javlja se kao posledica velikog membranskog obrta i destrukcije neurona i kod rekurentnog GBM tumora i kod terapijskih sekvela. Dok je kod rekurentnog GBM tumora odnos Cho/Cr najčešće > 1.8 , kod terapijskih sekvela je odnos Cho/Cr najčešće < 1.8 (Sundgren, 2009). Povišene vrednosti mI, usled glijalne reakcije, i prisustvo Lip i Lac pikova, usled destrukcije mijelina, nekroze i limfocitne reakcije, mogu se uočiti i kod rekurentnog GBM tumora i kod terapijskih sekvela (Sundgren, 2009). Usled navedenog, izolovana analiza MRS parametara, kao i DWI i SWI parametara, nije u mogućnosti da obezbedi preciznu i pouzdanu diferencijaciju rekurentnog GBM tumora od terapijskih sekvela (Zeng i sar., 2007; Bobek-Billewicz i sar., 2010).

Napredna MRI tehnika koja je dala najveću korist u diferenciranju rekurentnog GBM tumora od terapijskih sekvela je PWI. Jasna hiperperfuzija rekurentnog GBM tumora, sa povišenim CBV i CBF parametrima (2.34 – 3.25), i jasna hipoperfuzija kod terapijskih sekvela, sa sniženim CBV i CBF parametrima (0.87 – 1.56), nedvosmisleno omogućavaju razlikovanje ovih lezija (Barajas i sar., 2009; Hu i sar., 2009; Bobek-Billewicz i sar., 2010; Ozsunar i sar., 2010; Fella i sar., 2011; Choi i sar., 2013; Song i sar., 2013; Young i sar., 2013; Lee i sar., 2015; Prager i sar., 2015; Ye i sar., 2016; Nyberg i sar., 2016; Kim i sar., 2017).

U skladu sa pretodno navedenim, rekurentni GBM tumor se karakteriše: najčešće niskim ADC vrednostima dobijenim iz DWI, pojavom patološke mikrovaskularizacije na SWI, visokim odnosom Cho/Cr i niskim odnosom NAA/Cr na MRS, kao i hiperperfuzijom na PWI (Slika 1). Sa druge strane, i pseudoprogresija tumora i radijaciona nekroza, kao terapijske sekvela, odlikuju se: najčešće visokim ADC vrednostima dobijenim iz DWI, odsustvom patološke mikrovaskularizacije na SWI, nižim odnosom Cho/Cr i višim odnosom NAA/Cr na MRS, kao i hipoperfuzijom na PWI (Slika 2).



Slika 1. Rekurentni GBM tumor kod 32 godine starog pacijenta. (A) Aksijalni postkontrastni T1W prikaz nekrotičnih lezija sa rubnim postkontrastnim pojačanjem signala u frontalnim režnjevima mozga obostrano, izraženije sa leve strane. Aksijalni prikaz (B) ADC mape pokazuje mešovite vrednosti difuzije sa fokusima restrikcije difuzije u delovima lezija koje su u korespodenciji sa postkontrastnim pojačanjem intenziteta signala. Aksijalni prikaz (C) SWI pokazuje multiple tačkaste i/ili tubularne intralezione promene obostrano. Aksijalni prikaz (D) DSC i (E) ASL perfuzionih mapa pokazuje fokuse povišenog intenziteta signala (hiperperfuziju) u delovima lezija koje su u korespodenciji sa postkontrastnim pojačanjem intenziteta signala obostrano. (F) Multivoksel ^1H -MRS (TE=135 ms) ukazuje na elevaciju Cho, redukciju NAA i prisustvo Lip i Lac pikova u lezijama sa rubnim postkontrastnim pojačanjem signala i u perilezionom edemu.



Slika 2. Terapijska sekvela kod 55 godina starog pacijenta. (A) Aksijalni postkontrastni T1W prikaz lezije sa rubnim postkontrastnim pojačanjem signala insularno sa desne strane. Aksijalni prikaz (B) ADC mape pokazuje mešovite vrednosti difuzije bez fokusa restrikcije difuzije u delovima lezija koje su u korespondenciji sa postkontrastnim pojačanjem intenziteta signala. Aksijalni prikaz (C) SWI ne pokazuje intralezione promene koje bi ukazivale na mikrovaskularizaciju. Aksijalni prikaz (D) DSC i (E) ASL perfuzionih mapa ne pokazuje fokuse povišenog intenziteta signala (hiperperfuzije) u delovima lezije koji su u korespondenciji sa postkontrastnim pojačanjem intenziteta signala. (F) Multivoksel ¹H-MRS (TE=135 ms) ne ukazuje na elevaciju Cho, ukazuje na manju redukciju NAA i na prisustvo Lip i Lac pikova u leziji sa rubnim postkontrastnim pojačanjem signala.

1.5. Problem istraživanja

U cilju diferencijacije rekurentnog GBM tumora od terapijskih sekvela neophodna je primena naprednih MRI tehnika, imajući u vidu da konvencionalni MR pregled endokranijuma nije u mogućnosti da razlikuje ove zasebne entitete.

Mnogobrojne studije su analizirale primenu naprednih MRI tehnika u diferencijaciji GBM tumorske rekurencije od terapijskih sekvela (Sundgren i sar., 2006; Zeng i sar., 2007; Bobek-Billewicz i sar., 2010; Park i sar., 2010; Lupo i sar., 2013; Chu i sar., 2013; Song i sar., 2013; Cha i sar., 2013; Kim i sar., 2014; Kim i sar., 2014; Prager i sar., 2015; Lee i sar., 2015). Dok su vrednosti DWI, MRS i PWI-DSC parametara u cilju diferenciranja rekurentnog visokogradusnog tumora od terapijskih sekvela dostupne u literaturi, mali broj studija se bavio SWI i PWI-ASL analizom (Park i sar., 2010; Ozsunar i sar., 2010; Järnum i sar., 2010; Lupo i sar., 2013; Choi i sar., 2013; Wang i sar., 2016; Nyberg i sar., 2016; Kim i sar., 2017). Imajući u vidu da je PWI napredna tehnika dala najveći doprinos u diferenciranju rekurentnog GBM tumora mozga od terapijskih sekvela, posebna pažnja je posvećena analizi klinički nedovoljno ispitane nekontrastne ASL tehnike perfuzije, koja je komparirana sa klinički utemeljenom DSC tehnikom perfuzije.

Iako je evaluacija pojedinačnih MRI parametara pokazala svoj značaj u diferenciranju tumora mozga, dosadašnja istraživanja su pokazala da su multiparametarske MRI analize značajno povećale senzitivnost, specifičnost i/ili dijagnostičku tačnost MRI u komparaciji sa individualnim MRI tehnikama (Sundgren i sar., 2006; Zeng i sar., 2007; Bobek-Billewicz i sar., 2010; Cha i sar., 2013; Chu i sar., 2013; Lupo i sar., 2013; Song i sar., 2013; Kim i sar., 2014; Kim i sar., 2014; Lee i sar., 2015; Prager i sar., 2015).

Većina objavljenih studija je koristila statističke metode za interpretaciju dobijenih MR podataka. U poslednjih nekoliko godina, razvoj i primena metoda veštačke kompjuterske inteligencije je u porastu u oblasti medicine i to u: analizi radioloških prikaza, dijagnostici i gradiranju tumorskih lezija, proceni odgovora na

terapiju, kao i predikciji ishoda pacijenata (Ramesh i sar., 2004). U mnogobrojnim studijama je pokazano da različite metode veštačke inteligencije predstavljaju dobar alat za radiologe i da mogu biti korišćene kao zamena za invazivne metode u klasifikaciji tumora mozga na bazi relevantnih MRI odlika (Devos i sar., 2005; Li i sar., 2006; Zacharaki i sar., 2009; Zacharaki i sar., 2011; Orphanidou-Vlachou i sar., 2014; Ranjith i sar., 2015; Veer i sar., 2015).

Veštačka neuronska mreža (artificial neural network, ANN) predstavljaju jednu od modernih metoda kompjuterske inteligencije koja je inspirisana neuronskim mrežama u ljudskom mozgu, a koja funkcioniše kao sistem za učenje i obradu informacija (Wang i sar., 2012; Macura i sar., 2015). Za razliku od statističkog pristupa, ANN koristi trening, adaptaciju i evoluciju u cilju razvoja fleksibilnog matematičkog modela za generalizaciju, detekciju glavnih karakteristika ulaznih podataka i predikciju na osnovu ovih parametara (Macura i sar., 2015). Prednosti ANN su mnogobrojne: sposobnost da analizira veliki broj različitih podataka, fleksibilno modelovanje, sposobnost treninga i generalizacije, dobijanje pouzdanih rezultata, sposobnost predikcije sa niskom pristrastnošću i varijacijama, kao i ušteda na radnom vremenu. ANN, kao jedna od metoda kompjuterske inteligencije, obično se koristi u rešavanju problema klasifikacije i regresije (Suzuki i sar., 2009; Wang i sar., 2012; Li i sar., 2016). U oblasti istraživanja tumora, ANN je primenjivana u: procesuiranju slika, dijagnozi i gradiranju tumora, u proceni odgovora na terapiju i predikciji ishoda pacijenta (Ahmed, 2005).

U do sada objavljenoj literaturi, samo pet studija se bavilo analizom MRI parametara primenom različitih metoda veštačke inteligencije i njihovom mogućnošću diferencijacije rekurentnog tumora mozga od terapijskih sekvela (Hu i sar., 2011; Imani i sar., 2014; Ion-Margineanu i sar., 2015; Qian i sar., 2016; Artzi i sar., 2016). Prema dostupnoj literaturi, ovo je prva studija koja je analizirala sposobnost ANN da klasifikuje pacijente u grupu GBM recidiva ili terapijskih sekvela na osnovu DWI, SWI i ¹H-MRS parametara sa ciljem da ANN asistira radiološkoj dijagnozi i da se njenom primenom poboljša dijagnostička tačnost redukcijom lažno-pozitivnih i lažno-negativnih nalaza. U ovoj studiji PWI parametri nisu uključeni u ANN analizu zbog

malog uzorka pacijenata sa načinjenim PWI pregledima, a imajući u vidu da ANN zahteva veliki uzorak.

Vrednosti multiplih MRI parametara dobijenih primenom DWI, SWI, ¹H-MRS, PWI-DSC i PWI-ASL tehnika mogu biti od značaja u diferenciranju terapijskih sekvela od recidiva tumora kod pacijenata obolelih od GBM koji su tretirani postoperativnom radioterapijom i hemioterapijom temozolomidom.

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Cilj istraživanja ovog rada je bio da se uoči da li je moguća diferencijacija terapijskih sekvela od recidiva tumora kod pacijenata sa GBM tumorom mozga koji su tretirani postoperativnom radioterapijom i hemioterapijom temozolomidom na osnovu:

1. kvantitativne vrednosti ADC dobijene iz DWI,
2. semikvantitativnog merenja SWI gradusa,
3. kvantitativne vrednosti Cho/Cr odnosa dobijenog iz ^1H -MRS,
4. kvantitativne apsolutne vrednosti CBF dobijene iz ASL,
5. kvantitativne vrednosti relativnog CBV dobijene iz DSC,
6. statističke komparacije prethodno navednih pojedinačnih MRI parametara sa određivanjem graničnih vrednosti pojedinačnih parametara za detekciju recidiva tumora, kao i senzitivnosti i specifičnosti primenjene MRI tehnike,
7. primene ANN kao metode koja ima sposobnost multiparametrijske analize MRI parametara dobijenih analizom DWI, SWI i ^1H -MRS tehnika MRI.

3. MATERIJAL I METODE ISTRAŽIVANJA

3.1. Materijal istraživanja

Istraživanje je izvršeno u Centru za radiologiju i magnetnu rezonancu Kliničkog centra Srbije, na Odeljenju za magnetnu rezonancu, u okviru Radne jedinice za dijagnostiku bolesti centralnog nervnog sistema, a nakon odobrenja institucionalnog Etičkog komiteta. Pretragom baze podataka pacijenata Odeljenja za magnetnu rezonancu analizom su obuhvaćeni svi pacijenti pregledani na MR aparatima jačine magnetnog polja od 1.5 i 3 Tesla (T) u periodu od decembra 2012. godine do januara 2017. godine, a koji su zadovoljavali navedene inkluzione i ekskluzione kriterijume istraživanja.

Kriterijumi za uključenje ispitanika u istraživanje su bili sledeći pacijenti:

1. sa postoperativnom patohistološkom verifikacijom GBM tumora mozga,
2. kod kojih je postoperativno sprovedena zračna i hemioterapija temozolomidom,
3. koji dolaze na redovan kontrolni MRI pregled bez kliničkih izmena ili vanredni MRI pregled endokranijuma usled sumnje na progresiju bolesti na osnovu pogoršanja kliničkog stanja,
4. kod kojih je na kontrolnom konvencionalnom MR pregledu endokranijuma ustanovljeno povećanje veličine ili stepena postkontrastnog pojačanja IS postojećih lezija ili pojava novih promena,
5. kod kojih su pored konvencionalnog MR pregleda endokranijuma primenjene i napredne MRI tehnike u kombinaciji – DWI, SWI i ^1H -MRS ili jedna od dve PWI tehnike (DSC, ASL),
6. koji su podvrgnuti reoperaciji sa patohistološkom verifikacijom lezije ili adekvatnom kliničko-neuroradiološkom praćenju koje će obezbediti konačnu dijagnozu terapijske sekvele ili recidiva tumora.

Ekskluzioni kriterijumi su bili:

1. neizvedenost MR pregleda u celini usled nemogućnost pacijenta da adekvatno izdrži pregled,
2. loši prikazi MR endokranijuma iz tehničkih razloga.

U studiju je uključeno ukupno 56 adultnih pacijenata muškog i ženskog pola sa patohistološki verifikovanim GBM tumorom mozga, koji su imali sumnju na tumorsku progresiju na osnovu kliničkog pogoršanja stanja i/ili radiološkog nalaza na konvencionalnom MRI pregledu endokranijuma nakon standardne posthirurške radioterapije i hemioterapije temozolomidom. Od ukupnog broja pacijenata, šest pacijenata je imalo multiple lezije koje nisu bile u međusobnom neposrednom odnosu, te su smatrane nezavisnim promenama, pa je ukupan broj analiziranih lezija bio 65.

Svi pacijenti su primili radioterapiju sa totalnom dozom od 60 Gy datom u 30 frakcija tokom 6 nedelja sa dozom od 2 Gy na dan. Konkomitantna oralna aplikacija temozolomida je podrazumevala primenu doze leka od 75 mg/m²/dan, a praćena je sa 6 ciklusa doze leka od 150 mg/m²/dan tokom 5 dana svakih 28 dana.

3.2. Metod istraživanja

Postterapijski kontrolni MRI pregled endokranijuma se izvodio na MR aparatima jačine osnovnog magnetnog polja od 1,5 T (Avanto, Siemens, Germany) i 3 T (Skyra, Siemens, Germany) sa primenom standardnih 16- i 32-kanalnih zavojnica za glavu.

3.2.1. MRI protokol pregleda endokranijuma

Kod svih pacijenata je primenjen standardni MRI protokol za pregled endokranijuma kod pacijenata sa tumorom mozga: aksijalni i sagitalni T2WI, aksijalni T1WI, koronarna FLAIR sekvencija, DWI sa softverskom kalkulacijom ADC mape, a nakon intravenske primene kontrastnog sredstva standardna trodimenzionalna (3D) T1WI MPRAGE (magnetization prepared rapid acquisition gradient echo) sekvencija. Pored navednog, kod 56 pacijenata je primenjen i SWI i ¹H-MRS pregled pre primene kontrastnog sredstva, a kod 31 pacijenta je primenjena ASL tehnika pre primene i DSC tehnika perfuzije nakon primene kontrastnog sredstva.

EPI spin-echo (SE) sekvencija je korišćena za dobijanje DWI sa *b* vrednostima od 0, 500 i 1000 s/mm² na 1.5 T, kao i *b* vrednostima od 0 i 1000 s/mm² na 3 T MRI

aparatura, kao i za kalkulaciju ADC mapa. Parametri za DWI su bili sledeći – za 1.5 T: vreme ponavljanja (time of repetition, TR)/vreme eha (time of echo, TE) 4000/89 ms, vidno polje (field of view, FOV) 230x230 mm, broj preseka 25, debljina preseka 5 mm, protok (bandwidth, Hz px⁻¹) 1240, broj signalnih preseka (number of signal averages, NSA) 2, veličina voksel 1.2x1.2x5.0 mm, vreme akvizicije (time of acquisition, TA) 1.08 min, za 3 T: TR/TE 5300/73 ms, FOV 220x220 mm, broj preseka 25, debljina preseka 5 mm, bandwidth (Hz px⁻¹) 657, NSA 2, veličina voksel 1.0x1.0x5.0 mm, TA 3.18 min.

Visoko-rezolutivna T2* SWI sekvencija je primenjena u cilju evaluacije standardne SWI, koja je dobijena kao kombinacija uvećanog i filter faznog prikaza u postprocesingu. Parametri za SWI su bili sledeći – za 1.5 T: TR/TE 49/40 ms, FOV 235x235 mm, broj preseka 56, debljina preseka 2 mm, bandwidth (Hz px⁻¹) 80, NSA 2, veličina voksel 1.2x1.2x2.0 mm, TA 2.59 min; za 3T: TR/TE 28/20 ms, FOV 220x200 mm, broj preseka 64, debljina preseka 2 mm, bandwidth (Hz px⁻¹) 120, NSA 3, veličina voksel 0.6x0.6x2.0 mm, TA 3.32 min.

¹H-MRS je primenjena kao standardna CSI tehnika sa: TE 135 ms, TR 1700 ms, debljina preseka 10 mm, FOV 160x160 mm, TA 6.8 min. Postkontrastni T1WI MPRAGE je korišćen za pozicioniranje volumena od interesa (VOI) u deo lezije koji se postkontrastno najintenzivnije pojačava u intenzitetu signala. U cilju supresije signala vode, primenjena je selektivna CSI saturacija, a integrali rezonantnih signala su dobijeni nakon bazne i fazne korekcije.

ASL tehnika perfuzije je primenjena pre aplikacije kontrastnog sredstva kao dvodimenzionalna (2D) pseudokontinuirana ASL metoda (PICORE Q2T) sa sledećim parametrima: TR 2500 ms, TE 12 ms, matriks akvizicije 64x64, FOV 256 mm, debljina preseka 8 mm, prored između preseka 25%, vreme inverzije (inversion time, IT) 1800 ms, vreme odlaganja nakon obeležavanja (post label delay) 0 ms, broj merenja 91, veličina voksel akvizicije 4x4x8 mm, SNR 1. Softverskom kalkulacijom je dobijena perfuzionarna ASL mapa.

DSC tehnika perfuzije je primenjena kao gradijent-echo planarna (gradient-echo planar imaging, EPI) sekvencija sa sledećim parametrima: TR 1950 ms, TE 30 ms, ugao pomeraja (flip angle, FA) 90°, akvizicioni matriks 128x128, FOV 220 mm, debljina preseka 4 mm, prored između preseka 10%, SNR 1. DSC je primenjena tokom intravenske aplikacije 0.2 mmol/kg Gd-kontrastnog sredstva (gadopentetate dimeglumine, Magnevist; Bayer Schering Pharma AG, Berlin, Germany) sa brzinom protoka od 5 mL/s primenom MRI kompatibilnog injektora (Spectris; Medrad, Germany) preko 20-kalibarnog perifernog angiokatetera. Bolus kontrastnog sredstva je bio praćen primenom 20 mL bolusa fiziološkog rastvora istom injekcionom brzinom i tehnikom. Softverskom kalkulacijom je dobijena perfuziona relativna CBV mapa.

3.2.2. Radiološka MRI analiza

Analiza MR prikaza je izvedena na komercijalnom softveru (Syngo Via, Siemens, Germany). Konvencionalne MRI, DWI, SWI, PWI-ASL i PWI-DSC prikaze su analizirala dva neuroradiologa sa 25 i 8 godina iskustva, dok su ¹H-MRS podatke analizirala dva diplomirana fiziko-hemičara sa 15 i 5 godina iskustva u oblasti medicine. Na osnovu analiziranih parametara lezije su klasifikovane u grupu rekurentnog GBM tumora ili terapijskih sekvela.

3.2.2.1. DWI analiza

U DWI analizi, pojedinačni ROI (region of interest), sa površinom od 0.20-0.50 cm², je manuelno nacrtan u zonu lezije sa najintenzivnijim postkontrastnim pojačanjem intenziteta signala, i prebačen na korespondentnu lokaciju na ADC mapi. ROI je takođe nacrtan u kontralateralno normalno moždano tkivo sa ciljem da se izračuna normalizovana ADC vrednost, kao $ADC_{lezija}/ADC_{normalno\ tkivo}$ odnos. Minimalna i srednja normalizovana ADC vrednost su izračunate. Cistični, nekrotični ili hemoragični delovi lezije, susedna kost, vazduh i krvni sudovi, su isključeni iz ROI analize.

3.2.2.2. SWI analiza

U SWI analizi primenjeno je semikvantitativno merenje kao u studiji Parka i saradnika (2010). Vizuelna detekcija hipointenznih tubularnih ili tačkastih struktura unutar lezije je podeljena na 4 gradusa:

- gradus 0 - bez alteracije intenziteta signala,
- gradus 1 – prisustvo 1-5 intralezionih hipointenznih tubularnih ili tačkastih struktura,
- gradus 2 - prisustvo 6-10 intralezionih hipointenznih tubularnih ili tačkastih struktura,
- gradus 3 - prisustvo > 10 intralezionih hipointenznih tubularnih ili tačkastih struktura.

Intralezione kalcifikacije i hemoragija su isključene iz SWI analize na osnovu konvencionalnih MRI i DWI.

3.2.2.3. ¹H-MRS analiza

U CSI ¹H-MRS, vokseli koji su pokazali najveća odstupanja Cho/Cr odnosa su odabrani za analizu.

3.2.2.4. PWI analiza

U ASL i DSC analizama, pojedinačni ROI, površine od 0.20-0.50 cm², je manuelno nacrtan u zoni lezije sa najvećim stepenom postkontrastnog pojačanja intenziteta signala, a zatim kopiran na korespodentnu lokaciju na ASL-CBF i DSC-CBV mapama. ROI je takođe primenjen i na adekvatnom kontralateralnom normalnom tkivu mozga. Iz ROI su isključeni: cistični, nekrotični ili hemoragični delovi lezije, susedna kost, vazduh i krvni sudovi. Za svaki ROI, srednja CBF i CBV vrednost je merena. Normalizovane CBF (normalized CBF, nCBF) i CBV (normalized CBV, nCBV) vrednosti su izračunate kao $CBF_{lezije}/CBF_{normalno\ tkivo}$ (CBFI/CBFn) odnos i kao $CBV_{lezije}/CBV_{normalno\ tkivo}$ (CBVI/CBVn) odnos.

3.3. Kriterijumi za dijagnozu rekurentnog tumora i terapijskih sekvela

Neuroradiološka dijagnoza rekurentnog GBM tumora ili terapijske sekvele je komparirana sa kontrolnim neuroradiološkim MRI prikazima endokranijuma sa kliničko-neuroradiološkim praćenjem pacijenata tokom minimum tri meseca od postavljanje radiološke radne dijagnoze. Regularan neurološki pregled i određivanje performans statusa pacijenata su obavljali nadležni neurohirurzi. Pacijentovo stanje je definisano kao progresija ukoliko je klinički status ili nalaz na MRI, odnosno prisustvo progresivne lezije sa postkontrastnim pojačanjem intenziteta signala, indikovao promenu terapijskog tretmana. Dijagnoza terapijskih sekvela je postavljena u slučajevima gde nije bila potrebna promena terapijskog protokola, a na osnovu kliničkog stanja pacijenta i kontrolnih MRI endokranijuma, gde je viđeno stagniranje ili regresija veličine i stepena postkontrastnog pojačanja intenziteta signala ranije opisivanih lezija.

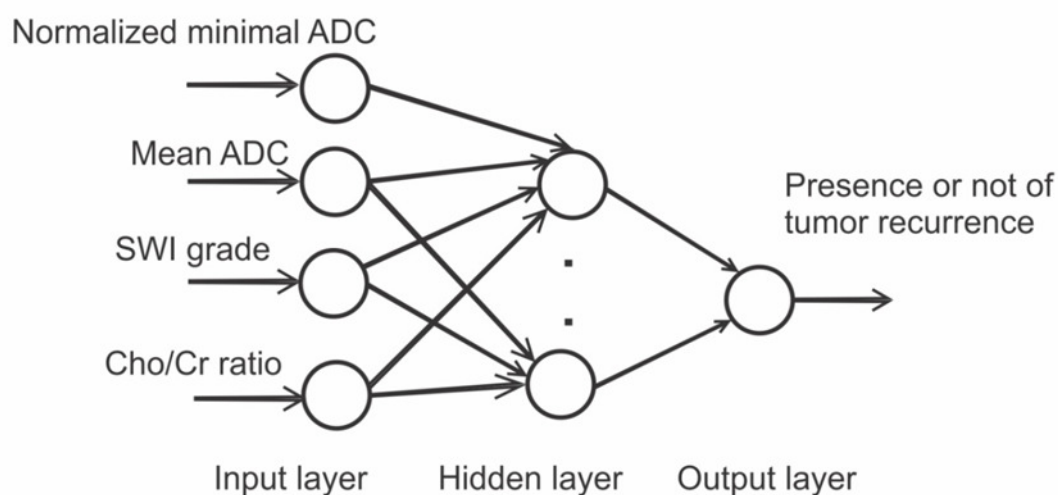
3.4. Statistička analiza podataka

Podaci su predstavljani u vidu procenata (%) ili numeričkim srednjim vrednostima sa standardnom devijacijom (SD). Optimalna granična vrednost (cut-off value) za normalizovanu minimalnu i srednju ADC vrednost, SWI gradus i Cho/Cr odnos, kao i normalizovane CBV i CBF vrednosti, dobijena je primenom ROC krive (receiver operating characteristic curve) i maksimalizovanjem sume senzitivnosti i specifičnosti (Youden index). Komparacija između grupa pacijenata sa GBM progresijom i terapijskim sekvelama je izvršena primenom t testa (paired t test). Korelacija između numeričkih vrednosti analiziranih ADC i Cho/Cr parametara, kao i CBV i CBF parametara je istražena primenom Pirsonove korelacione analize, dok je Mann-Whitney U test korišćen za grupnu komparaciju PWI parametara. Korelacija između vrednosti analiziranih ADC, Cho/Cr, CBV i CBF parametara sa SWI vrednostima je istražena primenom Spirmanove korelacione analize. Celokupna statistička analiza je obavljena primenom SPSS 20 softvera (SPSS 20, IBM corp.). Sve p vrednosti manje od 0.05 su smatrane signifikantnim.

3.5. Analiza podataka primenom veštačke neuronske mreže

Struktura primenjene ANN je troslojna neuronska mreža (Slika 3). Prvi sloj je bio ulazni sloj, gde su podaci prezentovani ANN. Ulazni sloj je sačinjen od 4 neurona: normalizovane minimalne i srednje ADC vrednosti, SWI gradusa i Cho/Cr odnosa, koji su predstavljali ulazne varijable. Srednji sloj je bio skriveni sloj, čija je funkcija bila da stvori komplikovane strukturne asocijacije. Jedan skriveni sloj je bio zadovoljavajući u većini aplikacija, dok je broj neurona u skrivenom sloju generalno determinisan kroz eksperiment. Treći sloj je bio izlazni sloj, koji je predstavljao odgovor ANN na korespodentni ulaz. Ulazne varijable su bile prisustvo ili odsustvo rekurentnog tumora.

Slika 3. Razvijena ANN



U razmatranje su uzeta tri seta podataka. Prvi set podataka je predstavljao podatke koji su korišćeni za ANN trening (Tabela 2), a mreža je adaptirana u korelaciji sa greškama napravljenim tokom ove faze. U cilju procene ANN modela, MATLAB softverski paket je izabran da prikaže algoritam povratnog prostiranja (back-propagation algorithm). ANN je trenirana kroz pravilo povratnog prostiranja (back-propagation rule), kao jedan od najkorišćenijih algoritama za trening. Princip ovog pravila je da se minimizira totalna izlazna greška kao što je prikazano u Jednačini 1:

$$MSE = \frac{1}{N * K} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^K (t_{ij} - a_{ij})^2,$$

gde je *MSE* (mean squares error) srednja kvadratna greška, *N* je broj testiranih podataka, *K* je broj izlaznih neurona, *t* je target izlazne vrednosti, i *a* je model izlazne vrednosti.

Drugi set podataka je korišćen za validaciju ANN. Ovi podaci su korišćeni za generalizaciju mreže i za završetak procesa treninga u momentu kada neuronska mreža prestane da pravi daljnji napredak. Konačno, treći set podataka je korišćen za testiranje ANN. Ovaj set podataka nije uticao na proces treninga, i kao ekstenzija, on predstavlja nezavisnu meru ANN performanse tokom i nakon treninga.

Tabela 2. ANN - Trening set podataka.

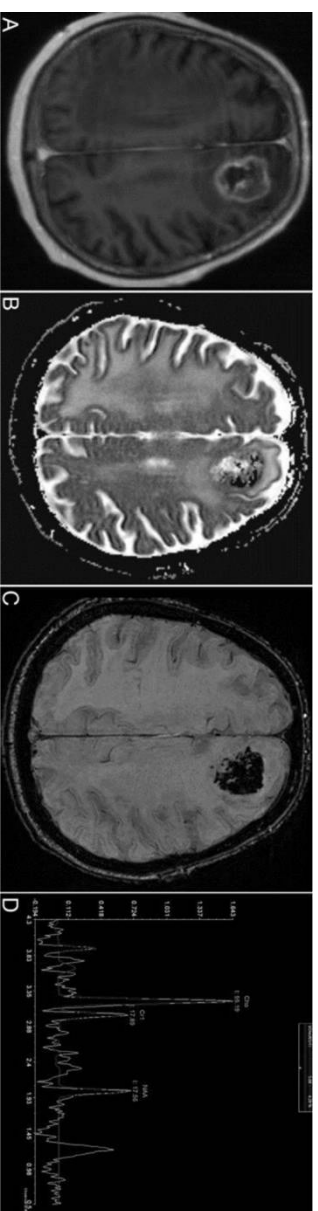
No.	Minimalna ADC	Srednja ADC	SWI gradus	Cho/Cr odnos	Prisustvo tumora
1.	1.21	1.21	3	2.45	1
2.	1.15	1.12	3	1.71	1
3.	1.19	1.14	3	2.20	1
...
65.	0.92	0.86	1	1.69	0

4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

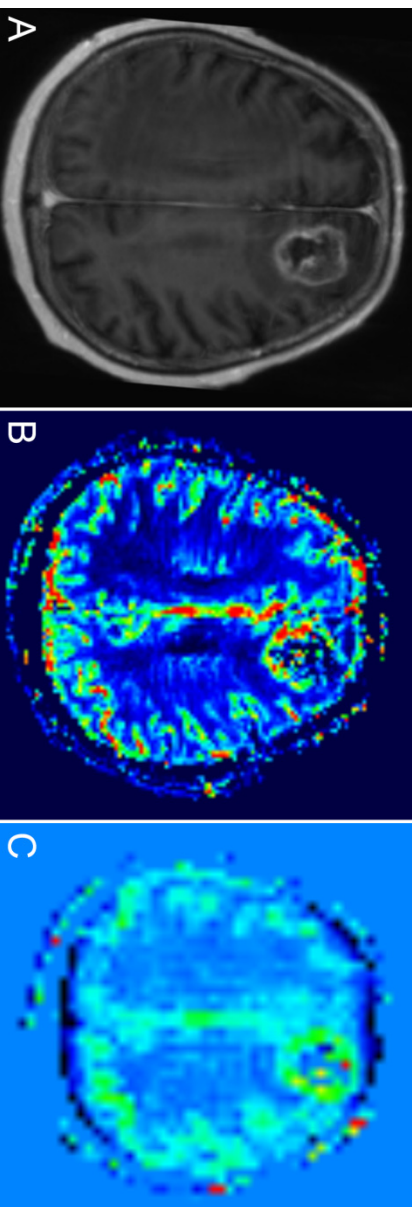
4.1. Odlike ispitanika

Studija je uključila 37 muškaraca i 19 žena sa GBM tumorom mozga sa raspon godina od 21-79 (srednje godine 54). Od ukupno 56 pacijenata, 50 pacijenata je imalo jednu leziju, 3 pacijenta su imala 2 lezije i 3 pacijenta su imala po 3 lezije, te je ukupan broj analiziranih lezija bio 65. Kod svih 56 pacijenata sa 65 lezija primenjen je konvencionalni MR pregled endokranijuma sa intravenskom primenom Gd-kontrastnog sredstva, kao i DWI, SWI i ¹H-MRS napredne MRI tehnike. Od ukupno 56 pacijenata, kod 31 pacijenta, sa sveukupno 40 lezija, primenjene su, pored navedenog, i DSC i ASL tehnike perfuzije.

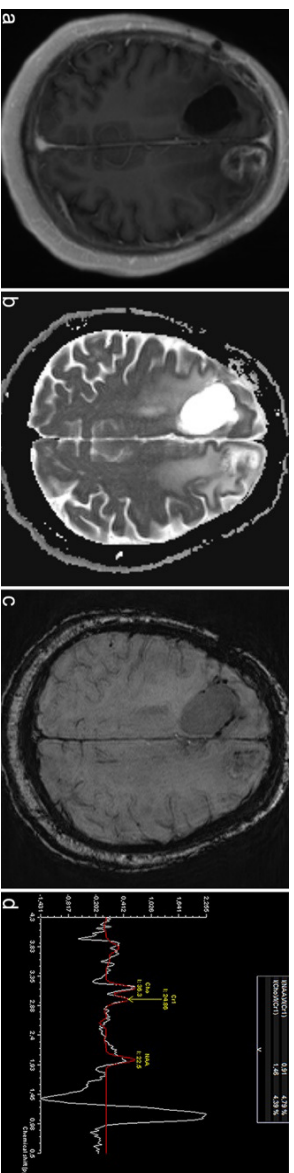
Od ukupnog broja lezija, 37 lezija (56.92%) je klasifikovano kao GBM rekurencija (Slika 4 i Slika 5), a 28 lezija (43.08%) kao terapijske sekvele (Slika 6 i Slika 7). Progresija stanja pacijenta je potvrđena kod 31 pacijenta, i to kliničkom egzacerbacijom kod 26 pacijenata (84%), a prisustvom progresivne lezije sa postkontrastnim pojačanjem intenziteta signala na kontrolnom MRI kod 5 pacijenata (16%). Potvrda dijagnoze terapijskih sekvela je potvrđena klinički stabilnim statusom pacijenta i odsustvom progresivne lezije sa postkontrastnim pojačanjem intenziteta signala na kontrolnom MRI pregledu endokranijuma kod 25 pacijenata (100%).



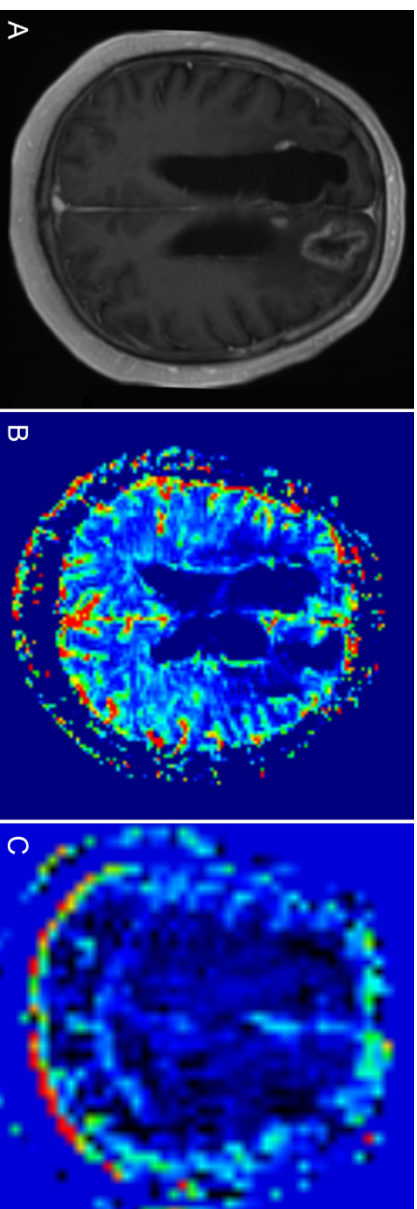
Slika 4. Rekurentni GBM tumor kod 55 godina starog pacijenta. (A) Aksijalni postkontrastni T1W prikaz nekrotične lezije sa rubnim postkontrastnim pojačanjem signala u frontalnom režnju mozga sa leve strane. **(B)** Aksijalni prikaz ADC mape. Restrikcija difuzije vidljiva u solidnom delu lezije. **(C)** Aksijalni prikaz SWI. Intraleziona vidljivo više od 10 tačkastih ili tubularnih struktura. **(D)** ^1H -MR spektar pokazuje visok odnos Cho/Cr u delu lezije sa postkontrastnim pojačanjem signala.



Slika 5. Rekurentni GBM tumor kod 57 godina starog pacijenta. (A) Aksijalni postkontrastni T1W prikaz nekrotične lezije sa rubnim postkontrastnim pojačanjem signala u frontalnom režnju mozga sa leve strane. Aksijalni prikaz (B) DSC i (C) ASL perfuzionih mapa pokazuje povišen intenzitet signala (hiperperfuziju) u delovima lezije koje su u korespondenciji sa postkontrastnim pojačanjem intenziteta signala.



Slika 6. Terapijska sekvela kod 65 godina starog pacijenta. (A) Aksijalni postkontrastni T1W prikaz. Postoperativni kavum u frontalnom režnju sa desne strane i nekrotična lezija sa rubnim postkontrastnim pojačanjem signala u frontalnom režnju mozga sa leve strane. (B) Aksijalni prikaz ADC mape. Nerestriktivna difuzija vidljiva u solidnom delu lezije u frontalnom režnju mozga sa leve strane. (C) Aksijalni prikaz SWI. Vidljivo 5-10 tačkastih ili tubularnih struktura u solidnom delu lezije u frontalnom režnju mozga sa leve strane. (D) ^1H -MR spektar pokazuje nizak odnos Cho/Cr u delu lezije sa postkontrastnim pojačanjem signala u frontalnom režnju mozga sa leve strane.

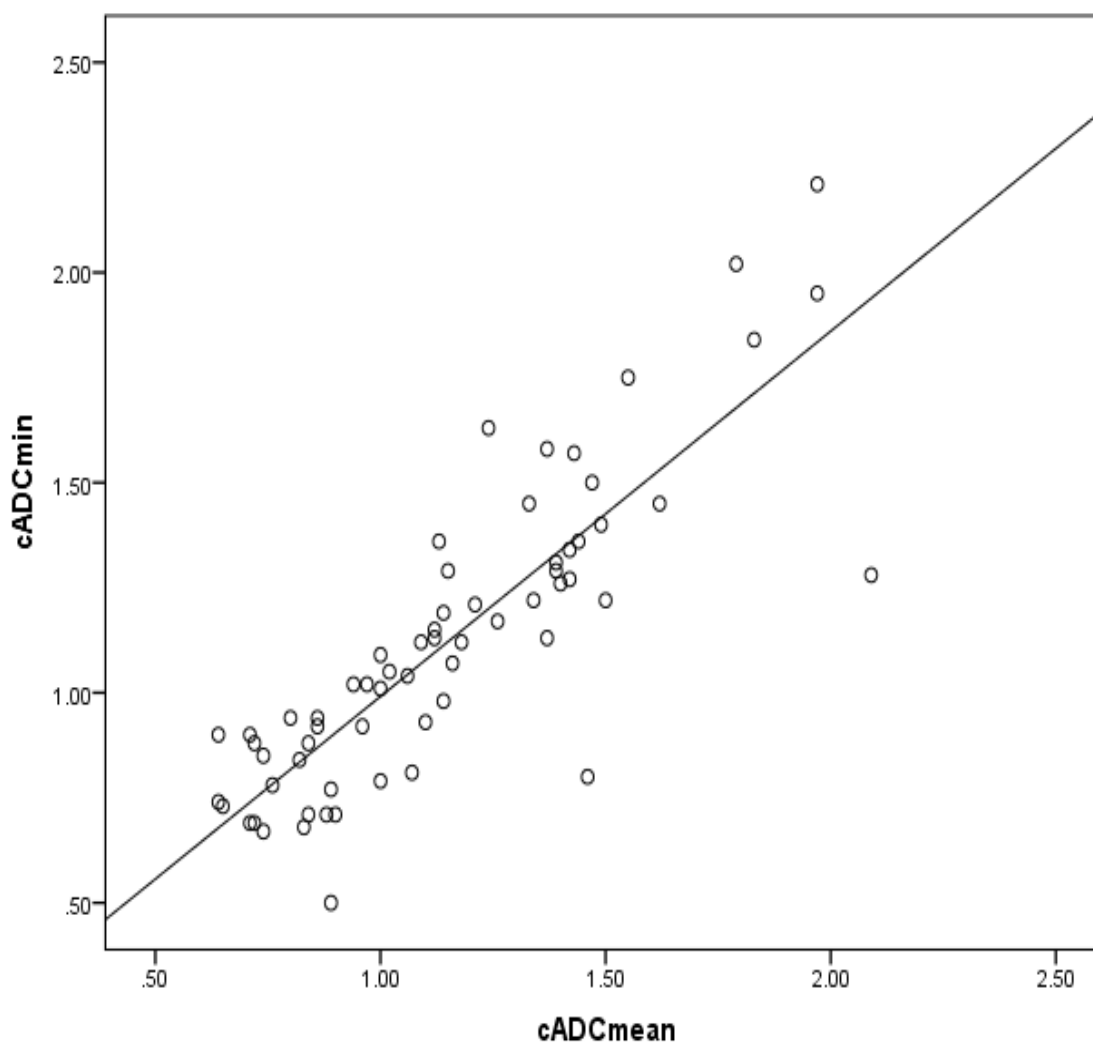


Slika 7. Terapijska sekvela kod 55 godina starog pacijenta. (A) Aksijalni postkontrastni T1W prikaz nekrotične lezije sa rubnim postkontrastnim pojačanjem signala u frontalnom režnju mozga sa leve strane. Aksijalni prikazi (B) DSC i ASL (C) perfuzionih mapa pokazuju odsustvo hiperperfuzije u delovima lezije koji su u korespondenciji sa zonama postkontrastnog pojačanja signala promene.

4.2. Statistički rezultati

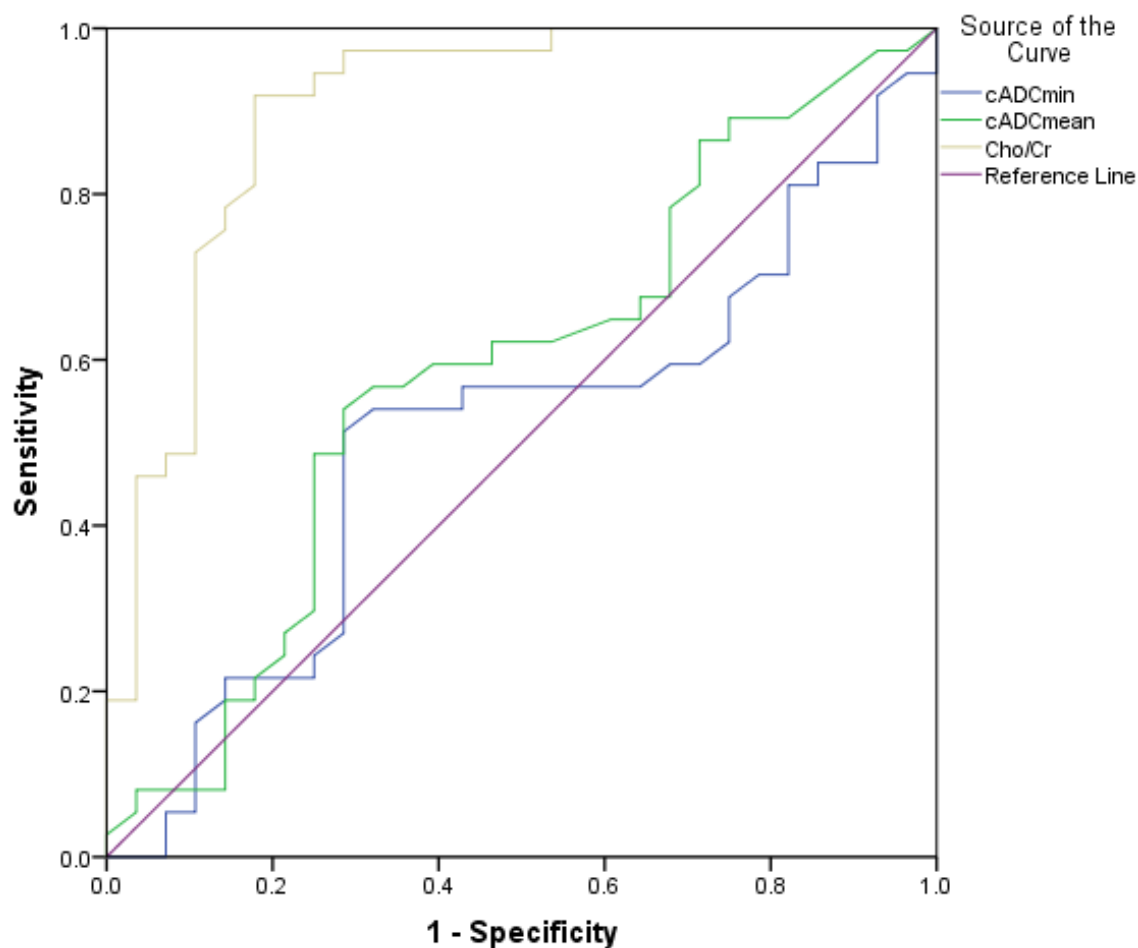
4.2.1. Statistički rezultati DWI analize

Statističkom analizom ustanovljeno je da je srednja normalizovana minimalna ADC vrednost iznosila $1.12 (\pm 0.36)$, dok je srednja normalizovana srednja ADC vrednost iznosila $1.15 (\pm 0.35)$ (Grafikon 1).



Grafikon 1. Tačkasti dijagram pokazuje odnose normalizovanih minimalnih i srednjih ADC vrednosti kod svih analiziranih pacijenata.

Primenom ROC analize, granična vrednost od 1.14 za normalizovanu minimalnu ADC je imala 54% senzitivnost i 71% specifičnost za prisustvo tumora (AUC=0.508; $p=0.910$). Slično, normalizovana srednja ADC vrednost od 1.13 je imala 51% senzitivnost i 71% specifičnost (AUC=0.586; $p=0.238$) (Grafikon 2).



Grafikon 2. ROC analiza za normalizovane minimalne i srednje ADC vrednosti i Cho/Cr odnos.

Pirsonova korelaciona analiza utvrdila je postojanje visoke i signifikante korelacije između normalizovane minimalne i srednje ADC vrednosti sa $r=0.848$ i $p<0.001$.

4.2.2. Statistički rezultati SWI analize

Analizom SWI gradusa ustanovljeno je da najveći broj lezija (62.2%) koje predstavljaju rekurentni GBM tumor ima više od 10 tačkastih i/ili tubularnih intralezionih promena sa sniženim signalom na SWI (SWI gradus 3), dok najveći broj lezija (57.1%) koje predstavljaju terapijske sekvele ima manje od 5 tačkastih i/ili tubularnih intralezionih promena sa sniženim signalom na SWI (SWI gradus 1) (Tabela 3).

Tabela 3. Broj i procenat tubularnih i/ili tačkasti intralezionih promena sa sniženim signalom na SWI kod rekurentnog GBM tumora i terapijskih sekvela.

MRI dijagnoza	SWI gradus				
	0	1	2	3	Ukupno
Rekurentni GBM tumor	0 0%	6 16.2%	8 21.6%	23 62.2%	37 100.0%
Terapijska sekvela	6 21.4%	16 57.1%	1 3.6%	5 17.9%	28 100.0%
Ukupno	6 9.2%	22 33.8%	9 13.8%	28 43.1%	65 100.0%

SWI gradus 2 predstavlja graničnu vrednost za prisustvo tumora sa 87% senzitivnosti i 82% specifičnosti (AUC=0.854; $p<0.001$).

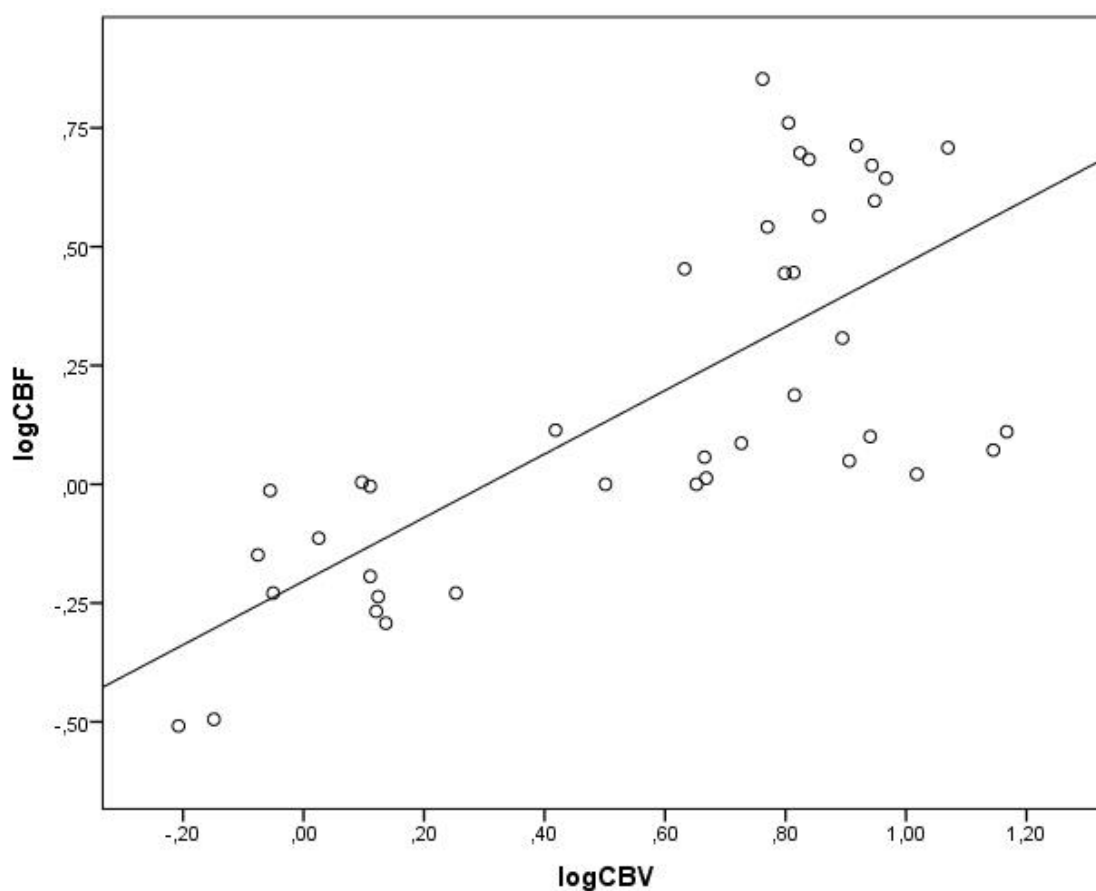
4.2.3. Statistički rezultati ^1H -MRS analize

Statističkom analizom je ustanovljeno da je srednja vrednost Cho/Cr odnosa iznosila $2.21 (\pm 0.84)$.

Granična vrednost od 1.8 za Cho/Cr odnos je imala 92% senzitivnost i 82% specifičnost da odredi prisustvo rekurentnog tumora ($\text{AUC}=0.903$; $p<0.001$) (Grafikon 2).

4.2.4. Statistički rezultati analize PWI

Statističkom analizom je ustanovljeno da je srednja CBV vrednost iznosila 5.31 (± 3.79), dok je srednje CBF vrednost iznosila 2.16 (± 1.84) (Grafikon 3).



Grafikon 3. Tačkasti dijagram pokazuje raspodelu normalizovane CBV i CBF vrednosti kod svih analiziranih pacijenata.

Primenom ROC analize, ustanovljena je granična vrednost od 2.89 za CBV koja je imala 100% senzitivnosti i 100% specifičnosti za determinisanje prisustva tumora (AUC=1,000; $p<0.001$). Slično tome, za CBF granična vrednost od 0.995 je imala senzitivnost od 100% i specifičnost od 73.7%, odnosno granična vrednost od 1.02 je imala senzitivnost od 92.3% i specifičnost od 92.9% za determinisanje prisustva tumora (AUC=0.967; $p<0.001$).

Pirsonova korelaciona analiza je utvrdila postojanje visoke i signifikante korelacije između normalizovane CBV i CBF vrednosti u diferencijaciji GBM rekurencije od terapijskih sekvela sa $r=0.733$ i $p<0.001$.

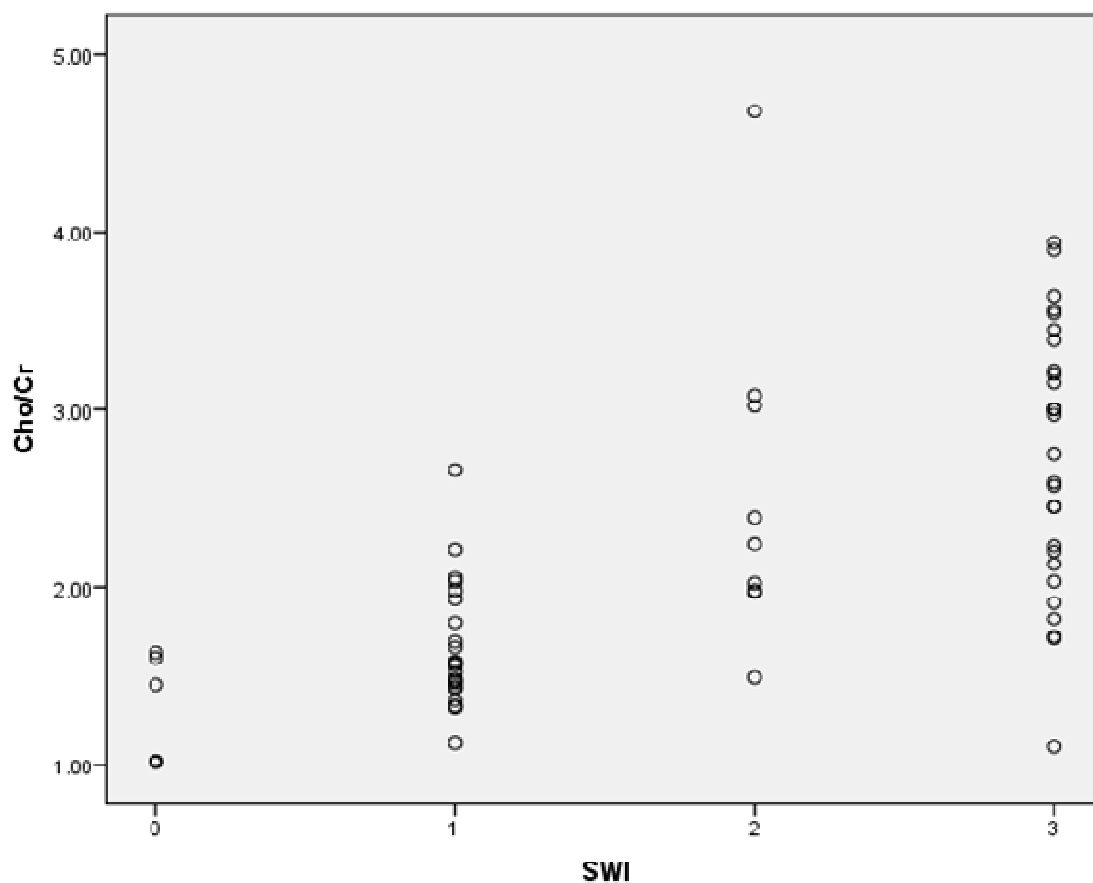
4.2.5. Statistički rezultati analize udruženih MR parametara

Spirmanovom korelacionom analizom nije ustanovljeno postojanje signifikante korelacije između normalizovane minimalne i srednje ADC vrednosti i SWI vrednosti (za minimalnu ADC: $p=0.026$ i $p=0.837$; za srednju ADC: $p=0.080$ i $p=0.529$).

Pirsonovom korelacionom analizom nije ustanovljeno postojanje signifikante korelacije između normalizovane minimalne i srednje ADC vrednosti i vrednosti Cho/Cr odnosa (za minimalnu ADC: $r=0.050$ i $p=0.695$; za srednju ADC: $r=0.111$ i $p=0.378$).

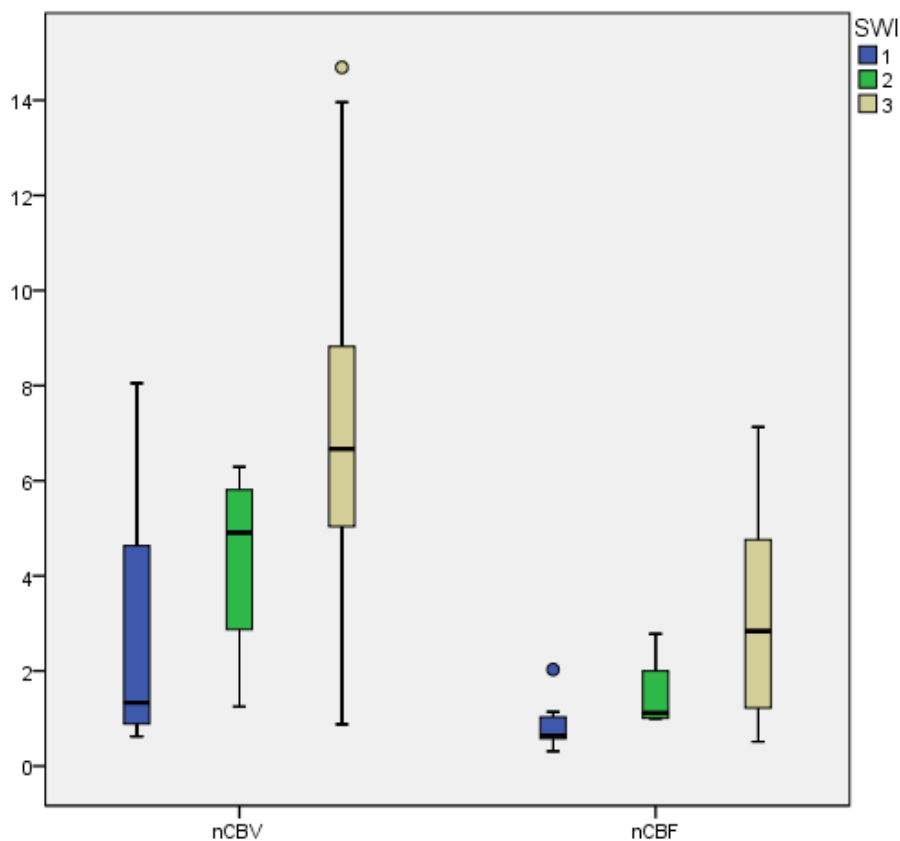
Nije utvrđena korelacija između normalizovane minimalne i srednje ADC vrednosti i normalizovanih CBV vrednosti (za minimalnu ADC: $r=0.070$ i $p=0.966$; za srednju ADC: $r=0.081$ i $p=0.620$), kao ni između normalizovane minimalne i srednje ADC vrednosti i normalizovanih CBF vrednosti (za minimalnu ADC: $r=0.132$ i $p=0.417$; za srednju ADC: $r=0.147$ i $p=0.364$).

Spirmanovom korelacionom analizom utvrđeno je postojanje statistički značajne korelacije između SWI gradusa i vrednosti Cho/Cr odnosa sa $\rho=0.706$ i $p<0.001$ (Grafikon 4).



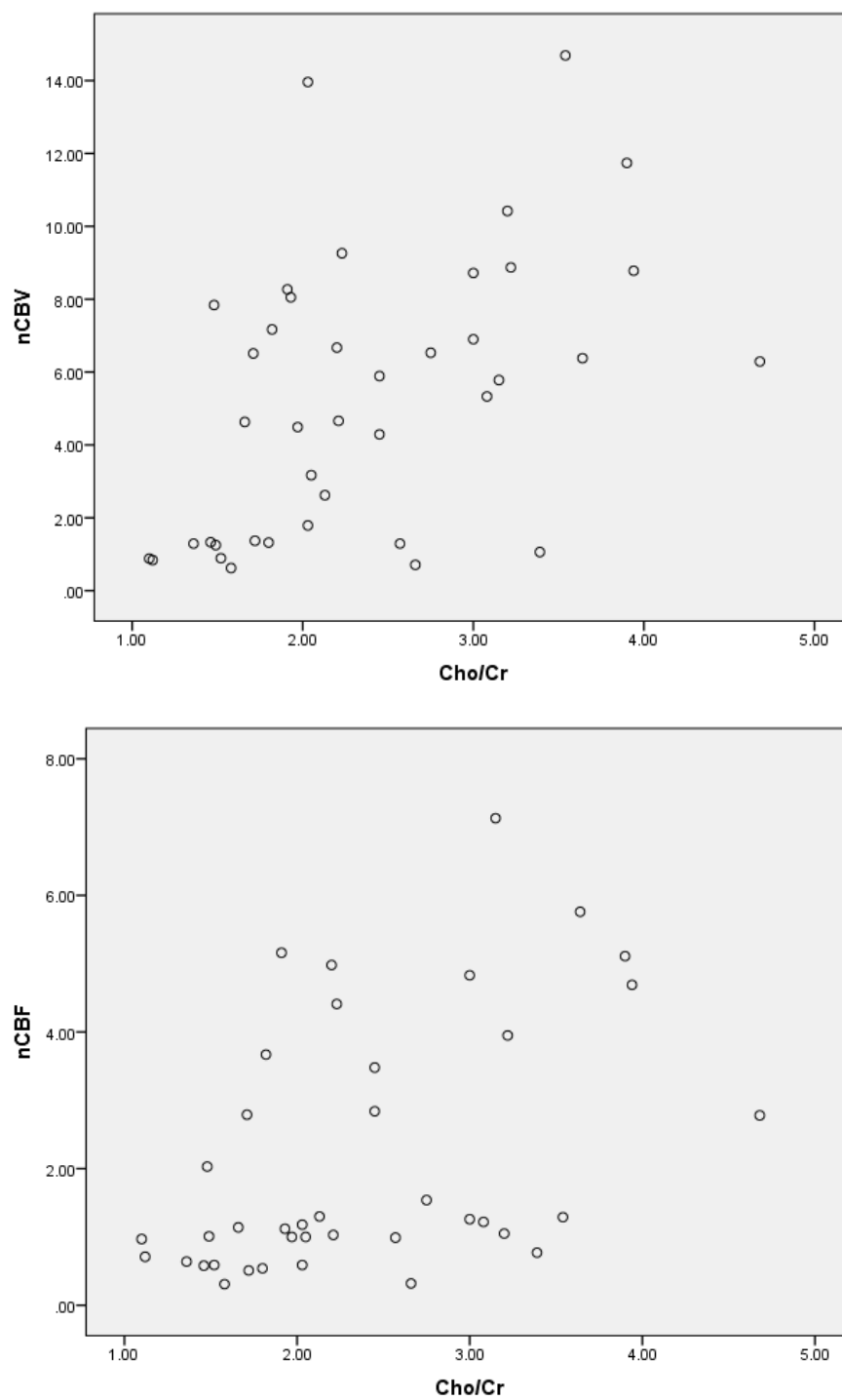
Grafikon 4. Tačkasti dijagram predstavlja odnos SWI i Cho/Cr vrednosti.

Spirmanovom korelacionom analizom utvrđeno je postojanje statistički značajne korelacije između SWI gradusa i normalizovanih CBV vrednosti sa $\rho=0.512$ i $p<0.001$, kao i između SWI gradusa i normalizovanih CBF vrednosti sa $\rho=0.635$ i $p<0.001$ (Grafikon 5).



Grafikon 5. Grafički prikaz odnosa između vrednosti SWI gradusa i normalizovanih CBV i CBF parametara.

Pirsonovom korelacionom analizom utvrđeno je postojanje statistički značajne korelacije između vrednosti Cho/Cr odnosa i normalizovanih CBV vrednosti sa $r=0.503$ i $p<0.001$, kao i između vrednosti Cho/Cr odnosa i normalizovanih CBF vrednosti sa $r=0.518$ i $p<0.001$ (Grafikon 6).



Grafikon 6. Tačkasti dijagram prikaza odnosa Cho/Cr i normalizovanih CBV i CBF parametara.

Korelacija između radne radiološke i konačne kliničko-radiološke dijagnoze rekurentnog GBM tumora i terapijskih sekvela je visoko statistički značajna, a neslaganje je utvrđeno samo u 2 slučaja (Tabela 4).

Tabela 4. Korelacija između radne MRI i konačne kliničko-radiološke dijagnoze rekurentnog GBM tumora i terapijskih sekvela.

MRI dijagnoza rekurentnog GBM tumora	Konačna dijagnoza rekurentnog GBM tumora		
Ne	Ne	Da	Ukupno
Broj lezija	27	1	28
% MRI dijagnoze	96.4%	3.6%	100.0%
% Konačne dijagnoze	96.4%	2.7%	43.1%
Da			
Broj lezija	1	36	37
% MRI dijagnoze	2.7%	97.3%	100.0%
% Konačne dijagnoze	3.6%	97.3%	56.9%
Ukupno			
Broj lezija	28	37	65
% MRI dijagnoze	43.1%	56.9%	100.0%
% Konačne dijagnoze	100.0%	100.0%	100.0%

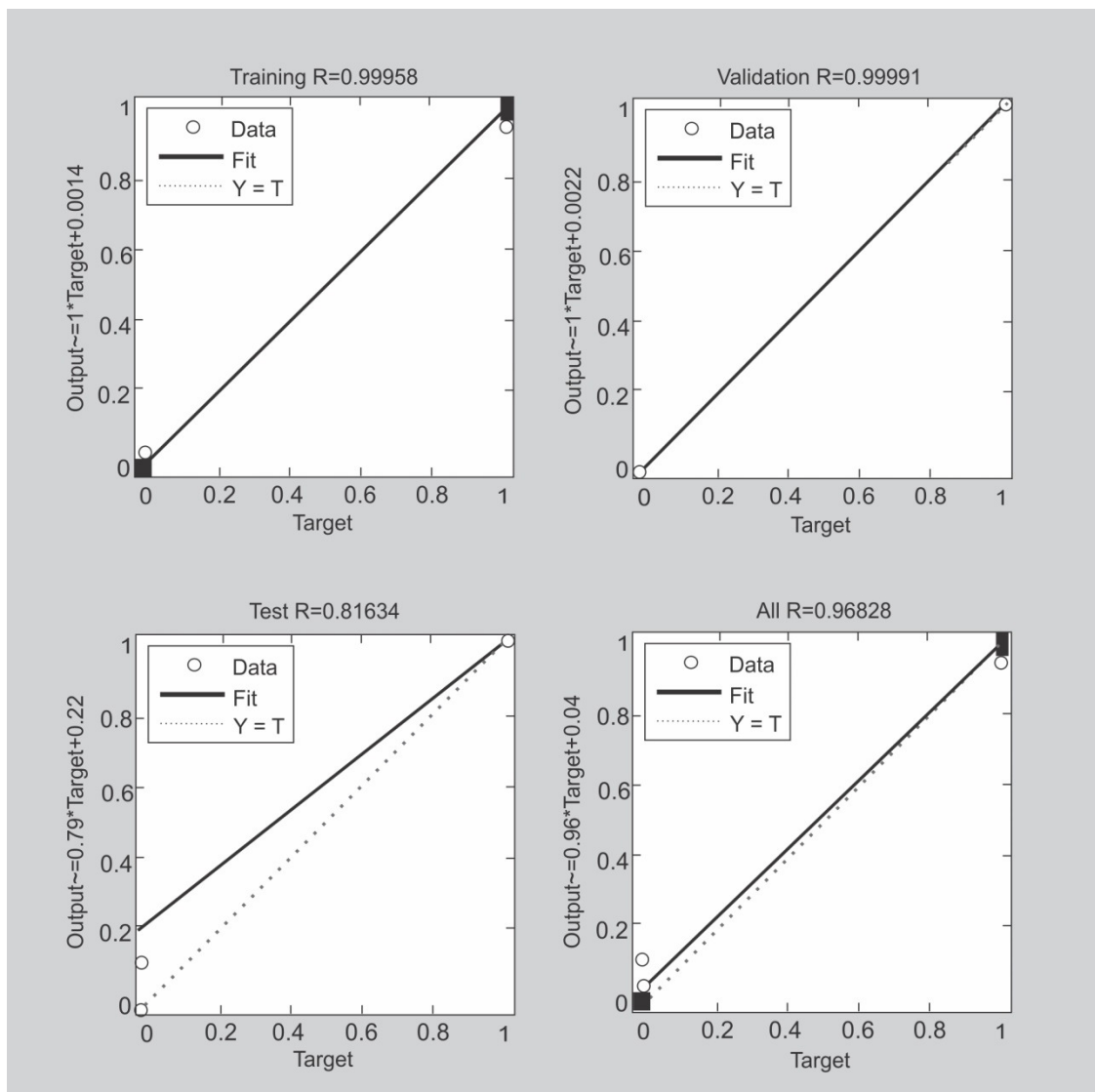
4.3. Rezultati analize veštačke neuronske mreže

Ulazne i izlazne varijable su bile ili numeričke vrednosti (normalizovana minimalna i srednja ADC vrednost, SWI gradus i Cho/Cr odnos) ili binarni kodovi (prisustvo tumora ili ne). Od ukupno 244 setova podataka, razvijena ANN je trenirana sa 170 setova podataka (70%), dok je validacija i testiranje ANN učinjeno sa preostalih 74 setova podataka (30%). S obzirom da efikasnost algoritma povratnog prostiranja za trening ANN zavisi od broja neurona u skrivenom sloju ANN, različit broj neurona (raspon od 5-20) u skrivenom sloju je testiran. Tabela 5 pokazuje regresiju u slučaju: treninga, validacije i testiranja, kao i u svim podacima (zbirni trening, validacioni i test podaci), i, kao što se može videti, najbolju predikciju ANN daje sa 10 neurona u skrivenom sloju.

Tabela 5. ANN - Regresija u slučaju: treninga, validacije, testiranja, i u svim podacima.

Broj skrivenih neurona	Trening	Validacija	Test	Svi podaci
20	0.82008	0.82134	0.79236	0.81876
10	0.99958	0.99991	0.81634	0.96828
5	0.87267	0.84189	0.8806	0.8235

Tokom trening faze, ANN je predvidela prisustvo rekurentnog tumora (klasifikovala pacijente u grupu GBM progresije ili ne) i reflektovala realnost u 99% slučajeva. Kada su test podaci obrađeni, tačnost predikcije ANN je bila u 96.8% svih slučajeva. Regresija u slučaju treninga, validacije i testiranja, kao i u svim podacima je prikazana na Slici 8, gde x-osa pokazuje target vrednosti (konačna kliničko-radiološka dijagnoza), dok y-osa pokazuje izlazne vrednosti (konačna ANN dijagnoza).



Slika 8. Usaglašenost izlaznih podataka i target rezultata primenjene ANN.

5. DISKUSIJA

U ovoj doktorskoj studiji primenjena je ANN da klasifikuje tretirane GBM pacijente u grupu rekurencije GBM tumora ili terapijskih sekvela na osnovu multiplih MRI parametara sa ciljem da se proceni sposobnost ANN u asistenciji radiološkoj dijagnostici i povećanju radiološke dijagnostičke tačnosti. DWI, SWI i ¹H-MRS podaci dobijeni iz MR pregleda endokranijuma pacijenata sa GBM tumorom mozga, koji su imali kliničko i/ili radiološko pogoršanje nalaza nakon postoperativne radioterapije i hemioterapije temozolomidom, evaluirani su statistički i primenom ANN. Sa ovim ciljem razvijena je ANN kao multiparametrijski model mašinskog učenja (machine-learning model).

ADC, dobijen iz DWI napredne MRI tehnike, predstavlja difuziju molekula vode unutar intracelularnog i ekstracelularnog prostora. Međutim, glavni predmet DWI analize je difuzija molekula vode unutra ekstracelularnog i ekstravaskularnog prostora. Kod visokogradusnih tumora, veličina ekstracelularnog prostora je redukovana, te je difuzija molekula otežana. Stoga je ADC vrednost u obrnutoj korelaciji sa celularnošću tumora. Po pravilu, hipercelularnost visokogradusnih tumora uzrokuje niske ADC vrednosti, dok nekroza ili ćelijska liza nakon radioterapije i hemioterapije pokazuju visoke ADC vrednosti kao manje celularne promene (Verma i sar., 2013; Kim i sar., 2016).

Statistički rezultati u ovoj studiji ne pokazuju statistički značajnu razliku u normalizovanim minimalnim i srednjim ADC vrednostima u grupi pacijenata sa GBM rekurentnim tumorom i sa terapijskim sekvelama. Granična vrednost za detekciju GBM rekurentnog tumora je iznosila za normalizovanu minimalnu ADC vrednost 1.14, a za normalizovanu srednju ADC vrednost 1.13. Slično ovoj studiji, Prager i saradnici (2015) su se bavili mogućnošću diferencijacije visokogradusnih astrocitoma od terapijskih efekata na osnovu 2D ROI analize ADC vrednosti u lezijama sa postkontrastnim pojačanjem signala. Oni su pokazali da ne postoji razlika u normalizovanim srednjim ADC vrednostima ($ADC \leq 1.39$, 52.6% senzitivnost i 90% specifičnost) između grupe pacijenata sa progresijom i pseudoprogresijom kod visokogradusnih astrocitoma. Bobek-Billewicz i saradnici (2010) su objavili slične

rezultate u analizi niskogradusnih i visokogradusnih astrocitoma. Oni su pokazali da normalizovane srednje ADC vrednosti nisu bile statistički značajno različite u grupi tumorske rekurencije i radijacione nekroze ($ADC = 1.55$ za tumorsku rekurenciju i radijacione sekvele).

Za razliku od rezultata u ovom radu, ADC vrednosti su se pokazale kao značajne u diferencijaciji tumorske rekurencije od terapijskih sekvela u nekoliko studija. Autori ovih studija su svojim analizama pokazali da su niže minimalne i srednje ADC vrednosti ili ADC odnosi prisutni kod rekurentnih tumora u komparaciji sa terapijskim sekvelama (Chu i sar., 2013; Song i sar., 2013; Cha i sar., 2013; Kim i sar., 2014; Kim i sar., 2014; Lee i sar., 2015). Međutim, za razliku od ove studije, gde je korišćena ROI analiza normalizovanih ADC vrednosti, navedeni autori su primenjivali histogram ADC analizu ili obrasce troslojne ADC analize, kao kompleksije analitičke metode.

Za razliku od prethodnih studija, Sundgren i saradnici (2006) su pokazali da je srednja ADC vrednost u lezijama sa postkontrastnim pojačanjem signala signifikantno viša kod rekurentnih tumora ($1.27 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$), nego kod radijacionih sekvela ($1.12 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$).

Pored različitih tehničkih pristupa primenjenih u citiranoj literaturi, važno je napomenuti da različiti fiziološki i patološki procesi mogu takođe uticati na ADC vrednosti. Tako, više ADC vrednosti mogu biti prisutne kod rekurentnog tumora usled prisustva mikroangiogeneze i nekroze, dok se niže ADC vrednosti mogu naći u terapijskim sekvelama kao posledica: glioze, fibroze, makrofagne invazije, demijelinizacije, koagulativne nekroze (Sundgren i sar., 2006; Zeng i sar., 2007; Bobek-Billewicz i sar., 2010). Takođe, neretko kombinovano prisustvo tumorskog tkiva i terapijskih sekvela u istoj leziji može dati srednje ADC vrednosti, bez mogućnosti diferencijacije ovih zasebnih entiteta. U skladu sa nevedenim, publikovani podaci o ADC vrednostima u cilju diferencijacije rekurentnog tumora od terapijskih sekvela su različiti.

SWI omogućava vizuelizaciju intrakranijalnih vena i krvnih produkata, odnosno mikrohemoragija, čime se omogućava neinvazivna analiza mikrovaskulature tumora. Visokogradusni tumori često imaju povišenu mikrovaskularizaciju i hemoragijske komponentne (Mittal i sar., 2009; Kim i sar., 2016). Dok se intralezijska analiza primenom postkontrastnih T1W prikaza bazira na detekciji nekroze, cisti i solidnog tumorskog tkiva, interna arhitektonika lezija primenom SWI je determinisana prisustvom krvnih produkata i/ili tumorskih krvnih sudova (Kim i sar., 2016). Primena SWI sekvencije pre i nakon intravenske administracije kontrastnog sredstva omogućava diferencijaciju venskih krvnih sudova i hemoragije. Dok će krvni sudovi imati postkontrastnu alteraciju intenziteta signala, intenzitet signala hemoragijskih komponenti lezije se neće promeniti nakon primene kontrastnog sredstva. Takođe, pojava novih lezija sa sniženim intenzitetom signala na postkontrastnoj SWI sekvenciji, u odnosu na nekontrastnu SWI sekvenciju, ukazuje na prisustvo intralezionih krvnih sudova (Mittal i sar., 2009; Zhang i sar., 2013).

Iako se znatan broj studija bavio procenama alteracije signala na SWI sekvenciji kod glijalnih tumora mozga (Sehgal i sar., 2006; Park i sar., 2009; Park i sar., 2010; Li i sar., 2010; Zhang i sar., 2013; Lupo i sar., 2013), u dosadašnjoj literaturi je objavljen samo jedan rad koji je analizirao intralezionu alteraciju signala na SWI sekvenciji u cilju diferentovanja rekurentnog tumora mozga od terapijskih sekvela (Kim i sar., 2014). Kim i saradnici (2014) su se bavili diferenciranjem različitih primarnih tumora mozga od kasnih postiradijacionih sekvela na osnovu PWI, DWI i SWI analize. Autori su dobili statistički značajno veće normalizovane CBV vrednosti kod rekurentnih tumora, kao i odsustvo razlike u ADC vrednostima između rekurentnih tumora i radijacione nekroze, što je u skladu sa ovom doktorskom disertacijom. Softverskom volumetrijskom analizom sniženog intenziteta signala na SWI unutar lezija sa postkontrastnim pojačanjem signala, Kim i saradnici (2014) su ustanovili da je srednja SWI vrednost statistički značajno manja kod rekurentnih tumora u odnosu na terapijske sekvele (granična vrednost 2.64%, senzitivnost 78.6%, specifičnost 100%). Međutim, rezultati SWI analize Kima i saradnika (2014) nisu u korelaciji sa rezultatima analize ove studije. Naime, oni objašnjavaju povišen intenzitet signala na SWI sekvenciji kod radijacionih sekvela pojavom hemoragije kao sekvele postiradijacione vaskulopatije. U

ovoj doktorskoj studiji intralezionalne kalcifikacije i hemoragija su isključene iz SWI analize na osnovu konvencionalnih MRI i DWI.

U ovoj studiji, SWI je analizirana kao u studiji Parka i saradnika (2010). Park i saradnici (2010) su analizirali različite glijalne i neglijalne netretirane tumore mozga i primenu DWI i SWI parametara u njihovoj diferencijaciji. Park i saradnici (2010) su pokazali da SWI gradus ≥ 2 može diferencijovati GBM tumor od metastatskih lezija mozga. Takođe, statistički rezultati ove studije pokazuju da je viši SWI gradus prisutan u lezijama koje su predstavljale rekurentni GBM tumor (SWI gradus ≥ 2), nego u terapijskim sekvelama. Iako je analiza Parka i saradnika (2010), kao i u ovoj doktorskoj disertaciji, zasnovana na vizuelnom skorovanju SWI vrednosti, to je ipak najčešće korišćen metod analize tkiva u rutinskoj kliničkoj praksi.

Drugi način SWI analize je prezentovan u studiji Lupa i saradnika (2013), koji su procenjivali terapijski odgovor pacijenata sa GBM tumorom mozga na primenjenu radioterapiju i hemioterapiju antiangiogenim (enzastaurin) i citotoksičnim lekovima (temozolomid), iako nijedan od pacijenata nije imao terapijske sekvele u vidu pseudoprogresije ili radijacione nekroze. Lupo i saradnici (2013) analizirali procenat promene intenziteta signala na SWI prikazima unutar lezija sa postkontrastnim pojačanjem intenziteta signala, i to pre i nakon primenjene terapije. Oni su pokazali da je pacijenti koji imaju veći procenat promene intenziteta signala na SWI, imaju bolji terapijski efekat od onih koji to nemaju. Takođe, Lupo i saradnici (2010) su dokazali da je vreme odsustva progresije bolesti i sveukupno preživljavanje pacijenata sa GBM tumorima mozga uslovljeno i procentom promene intenziteta signala na SWI sekvenciji unutar lezije sa postkontrastnim pojačanjem signala pre tretmana. Ovaj model SWI analize može biti korišćen i u budućim istraživanjima, i to ne samo u evaluaciji preterapijskih, nego i postterapijskih promena stukture lezija.

¹H-MRS obezbeđuje informacije o metabolizmu tkiva *in vivo* merenjem koncentracije različitih metabolita u tkivu. Cho je komponenta ćelijske membrane, čije povećanje kod visokogradusnih tumora je uzrokovano neoplastičnom ćelijskom proliferacijom. Kao marker metabolički aktivnog tkiva i kao najstabilniji cerebralni

metabolit Cr se najčešće koristi kao interni standard koji omogućava izračunavanje odnosa metabolita. Vrednost NAA, kao markera neurona, kao i mI, kao marker glijalnih ćelija, značajno su redukovane kod visokogradusnih tumora usled neuronske i glijalne destrukcije tumorskim ćelijama. Sa druge strane, Lip i Lac, kao markeri anaerobnog metabolizma i nekroze, povišenih su vrednosti i kod tumora i kod terapijskih sekvela. Sa porastom gradusa glijalnih tumorskih lezija rastu i vrednosti Cho, Lip i Lac, dok se vrednosti NAA i Cr redukuju (Verma i sar., 2013). Tako je normalna vrednost odnosa Cho/Cr jednaka 1.2, a patološka veća od 1.5, dok je NAA/Cr odnos normalne vrednosti od 2, a patološke manje od 1.6 (Sundgren, 2009).

Mnogobrojne prethodne studije su pokazale da se rekurentni tumor karakteriše visokim vrednostima Cho i niskim vrednostima NAA, dok se terapijske sekvele odlikuju niskim vrednostima svih metabolita, izuzev Lip (Zeng i sar., 2007; Sundgren, 2009; Bobek-Billewicz i sar., 2010; Abdula i sar., 2015). Slično kao u prethodnim studijama, u ovoj studiji je utvrđeno da odnos Cho/Cr > 1.8 signifikantno indikuje prisustvo tumorske rekurencije sa visokom senzitivnošću (92%) i specifičnošću (82%).

PWI tehnike omogućavaju hemodinamsku analizu tkiva, te analizu mikrovaskularizacije lezija. DSC tehnika je najčešće korišćena i klinički prihvaćena tehnika perfuzije, koja omogućava merenje relativne CBV i CBF vrednosti. Iako su mnogobrojne studije pokazale benefit od primene DSC tehnike perfuzije u diferencijaciji rekurentnog tumora od terapijskih sekevela (Barajas i sar., 2009; Hu i sar., 2009; Gahramanov i sar., 2013; Song i sar., 2013; Young i sar., 2013), postoji nekoliko nedostataka ove tehnike u toku praćenja onkoloških pacijenata koji su uslovljeni intravenskom primenom bolusa kontrastnog sredstva (Hygino da Cruz Jr i sar., 2011). Naime, u DSC tehnici, važni faktori su brzina intravenske injekcije kontrastnog sredstva, kao i kvalitet venskog pristupa i hemodinamika pacijenta, koje su obično narušene kod onkoloških pacijenata. Takođe, ektravazacija kontrastnog sredstva iz patološki izmenjenih krvnih sudova predstavlja važnu limitaciju, s obzirom da ona vodi ka potcenjivanju CBV vrednosti. Ipak, DSC tehnika perfuzije ima nekoliko prednosti, kao što su: bolji SNR, kraće vreme snimanja, lakša izvodljivost, kao i velika komercijalna dostupnost (Pollock i sar., 2009; Verma i sar., 2013).

Za razliku od DSC tehnike, ASL tehnika perfuzije ispituje perfuziju mozga sa endogenim intravaskularnim obeleživačem, koga predstavljaju protoni vodonika u vodi arterijske krvi. Takođe, ASL tehnika perfuzije omogućava merenje apsolutne CBF vrednosti moždanog tkiva. U ASL tehnici perfuzije, protoni se „obeležavaju” u regiji neposredno ispod regije od interesa moždanog tkiva. Nakon izvesnog vremena, takozvanog vreme inverzije (IT), obeležena krv dospeva do moždanog parenhima od interesa, nakon čega se vrši snimanje mozga u obeleženom i u kontrolnom neobeleženom stanju. Razlika u magnetizaciji između načinjena dva seta snimaka je proporcionalna količini arterijske krvi koja je dospela u regiju od interesa moždanog tkiva (Essig i sar., 2013).

Postoje dva osnovna tipa ASL tehnike perfuzije, a to su pseudokontinuirana (pseudocontinuous ASL, PASL) i kontinuirana (continuous ASL, CASL) ASL tehnika. U ovom istraživanju je primenjena 2D PASL tehnika perfuzije sa kratkim radiofrekventnim pulsom i registrovanjem akvizicije signala nakon kratkog IT.

ASL signal zavisi od parametara kao što su: brzina protoka, T1 vreme relaksacije krvi i tkiva, i tranzitno vreme obeležene arterijske krvi od obeleženog regiona do ravni snimanja. Kako je tranzitno vreme obeležene arterijske krvi kroz kapilarno korito značajno duže od T1 kašnjenja (decay), ekstravazacija kontrastnog sredstva nema uticaja na ASL intenzitet signala. Stoga je ASL neinvazivna tehnika koja ima mogućnost repeticije, te je posebno primenljiva za izvođenje kod pacijenata koji ne mogu da tolerišu intravensku injekciju bolusa kontrastnog sredstva. S druge strane, mane ASL tehnike uključuju nizak SNR i osetljivost na pokrete i artefakte susceptibilnosti (Pollock i sar., 2009; Detre i sar., 2009; Grade i sar., 2015).

Veliki broj prethodnih studija je koristio vrednosti CBV parametara dobijenih iz DSC tehnike perfuzije i CBF parametara dobijenih iz ASL tehnike perfuzije u cilju evaluacije stepena perfuzije moždanih tumora (Warmuth i sar., 2003; Knutsson i sar., 2010; Lehmann i sar., 2010; Van Westen i sar., 2011; Thomsen i sar., 2012; Roy i sar., 2013). Međutim, samo je nekoliko prethodnih studija analiziralo CBF parametre

dobijene iz ASL tehnike perfuzije u cilju diferencijacije rekurentnog glijalnog tumora od terapijskih sekvela (Ozsunar i sar., 2010; Järnum i sar., 2010; Choi i sar., 2013; Wang i sar., 2016; Nyberg i sar., 2016; Kim i sar., 2017).

Dok su normalizovane CBV vrednosti izračunate na osnovu DSC tehnike koje su dobijene u ovoj studiji u korelaciji sa objavljenim podacima u navedenoj literaturi, dobijene normalizovane CBF vrednosti izračunate na osnovu ASL tehnike su niže od do sada objavljenih. Prethodne studije su pokazale da normalizovane CBF-ASL vrednosti mogu obezbediti diferencijaciju između rekurentnih tumora i terapijskih sekvela sa različitim graničnim vrednostima. Choi i saradnici (2013) su zaključili da ASL vrednosti sa graničnom vrednošću od 4.73 mogu da diferenciraju GBM rekurentni tumor od pseudoprogresije sa statistički signifikatnom značajnošću, ali su navedeni autori analizirali perfuzioni signal kvalitativno, komparirajući signal lezije sa sivom i belom moždanom masom i krvnim sudovima. U ovoj doktorskoj studiji, ASL perfuzione vrednosti su analizirane kvantitativno, kao objektivniji metod analize.

Za razliku od homogene grupe pacijenata koja je bila prisutna u studiji Choi i saradnika (2013) i u ovoj doktorskoj studiji, većina drugih studija je analizirala pacijente sa različitim gradusima glioma (Ozsunar i sar., 2010; Järnum i sar., 2010; Wang i sar., 2016; Nyberg i sar., 2016; Kim i sar., 2017). Ozsunar i saradnici (2010) su posmatrali pacijente sa različitim visokogradusnim gliomima mozga koji su prethodno bili tretirani hirurški i primenjenom proton-zračnom terapijom. Järnum i saradnici (2010) su izračunali visoke granične normalizovane CBF vrednosti (4.86) komparirajući grupu pacijenata sa glijalnim i neglijalnim tumorima i terapijskim sekvelama. U studiji Wang i saradnika (2016), CBF parametri su analizirani kod pacijenata sa visokogradusnim i niskogradusnim gliomima pre i nakon radioterapije. Nyberg i saradnici (2016) su pronašli da normalizovani CBF sa graničnom vrednošću od 3.37 može izdiferencirati rekurentni tumor od radijacione nekroze, ali su oni analizirali različite visokogradusne gliome. Kim i saradnici (2017) su analizirali samo pacijente sa GBM rekurentnim tumorom i korelirali su CBF vrednosti sa MGMT promoter metilacionim statusom, ali tokom druge kure aplikacije niske doze temozolomida.

Razlike u dobijenim ASL vrednostima perfuzije u različitim studijama mogu biti uslovljene, ne samo analizom različitih tumora mozga i terapijskih efekata, nego i primenom različitih ASL tehnika i različitih pristupa merenjima vrednosti perfuzije. Tako su Ye i saradnici (2016) dobili više normalizovane CBF vrednosti i kod rekurentnih tumora (4.45) i kod terapijskih sekvela (1.22), ali su oni analizirali pacijente sa primarnim gliomima nakon radioterapije i hemioterapije primenom 3D PASL metode i komparirali su perfuzione vrednosti lezije samo sa kontralateralnom normalnom belom masom mozga. Nasuprot navednom, u ovoj studijskoj grupi, CBF vrednost je izračunavana primenom 2D PASL perfuzione tehnike na 3T MRI aparatu, normalizovanjem dobijenih vrednosti sa adekvatnim kontralateralnim normalnim moždanim tkivom (siva ili mela masa mozga), a sa ciljem da se redukuje različitost u vrednostima parametara perfuzije koja je uslovljena godinama života pacijenata, kao i razlike u stepenu perfuzije između sive i bele mase mozga.

Kao što je rečeno, niska vrednost IT kod ASL može voditi ka prividnoj hipoperfuziji moždanog tkiva (Pollock i sar., 2009). Vreme koje je potrebno protonima da pređu iz obeležene zone u regiju od interesa će se razlikovati zavisno od brzine protoka krvi i obeleženog bolusa. Životni vek obeleženih protona je ograničen, s obzirom da se bolus obeležene krvi vraća u ekvilibrijum u vremenskom intervalu koji zavisi od T1 vremenske konstante krvi. Takođe, u prisustvu kompresivnog efekta ekspanzivne lezije i radijacionih efekata, normalno kontralateralno moždano tkivo može imati viši udeo vode u svom sastavu i može biti zahvaćen procesom demijelinizacije, što vodi ka potcenjivanju perfuzionih vrednosti (Järnum i sar., 2010). Svi ovi zaključci mogu objasniti rezultate dobijenih vrednosti perfuzije ove doktorske studije.

Slično drugim studijama, u ovoj studiji je korišćena ROI analiza perfuzionih mapa, kao prihvatljiv rutinski metod analize, a koju su primenili isti radiolozi u svim merenjima, čime se minimizirala pristrasnost istraživača. Drugi pristup u evaluaciji PWI mapa je histogram analiza sa visokim slaganjem između istraživača, visokom senzitivnošću i negativnom prediktivnom vrednošću, nasuprot ROI metodi (Järnum i sar., 2010). Histogram analiza još nije primenjena u analizi CBF-ASL mapa u

diferencijaciji GBM rekurentnog tumora i terapijskih sekvela, i može biti novo polje istraživanja.

Nedostatak konzistencije u metodologiji i objavljenim rezultatima mogu biti barijera u kliničkom prihvatanju ASL tehnike perfuzije. Tako, optimalni MRI prikazi i redukcija artefakata mogu biti rešenje za dijagnostičku tačnost i kliničku prihvatljivost ASL tehnike perfuzije. U budućim studijama u izračunavanju vrednosti PWI parametara treba da se uzme u obzir lokalizacija lezija u specifičnim regijama mozga, s obzirom da se zna da anteriorne i posteriorne teritorije moždane cirkulacije imaju prolongirano tranzitno vreme kontrastnog sredstva, i da se često prikazuju sa hipoperfuzijom, sa ili bez prisustva artefakata susceptibilnosti (Pollock i sar., 2009).

U dostupnoj literaturi, medicinski podaci su uglavnom analizirani statističkim metodama koje uključuju: prikupljanje, organizaciju i interpretaciju numeričkih podataka. Sa druge strane, moderne metode kompjuterske inteligencije koriste trening, adaptaciju i evoluciju u cilju razvoja optimalnog matematičkog modela za evaluaciju podataka (Macura i sar., 2015). Aplikacija različitih metoda mašinskog učenja varira zavisno od: problema koji treba da se reši, ulaznih podataka, skrivenih varijabli, kao i izlaznih podataka (Wang i sar., 2012). U radiologiji, metode kompjuterske inteligencije se uglavnom koriste u: dijagnostici, prognozi i tretmanu, uglavnom tumora, i najčešće se primenjuju za: segmentaciju slika, registraciju, i kompjuterski vođenu detekciju i dijagnozu promena (Wang i sar., 2012).

Generalno, ANN se mogu koristiti za: klasifikaciju, klasterovanje, modelovanje, predikciju, asocijaciju, i optimizaciju (Macura i sar., 2015; Ranjith i sar., 2015). U medicini se najčešće koristi za rešavanje klasifikacionih i regresionih problema (Wang i sar., 2012; Suzuki i sar., 2009; Li i sar., 2016). Postoji veliki broj različitih ANN arhitektura, ali jedna od najčešće primenjivanih je napredna ANN sa više slojeva (Brougham i sar., 2011), koja je primenjena i u ovoj studiji.

Pored ANN, različite kompjuterske metode inteligencije, kao što su: podržavajuća vektor mašina (*support vector machine*, SVM), k-najbliži sused (*k-nearest neighbor*, *k-*

NN) i drvo odluke (*decision tree*), su korišćene u klasifikaciji tumora mozga na osnovu različitih MRI nalaza (Devos i sar., 2005; Li i sar., 2006; Zacharaki i sar., 2009; Zacharaki i sar., 2011; Orphanidou-Vlachou i sar., 2014; Ranjith i sar., 2015; Veer i sar., 2015). Devos i saradnici (2005) su analizirali niskogradusne i visokogradusne gliome i meningeome i kombinovali nalaze konvencionalnog MRI i $^1\text{H-MRS}$ u cilju poboljšanja klasifikacije tumora mozga primenom klasifikacionih tehnika (linearne diskriminantne analize i SVM). Li i saradnici (2006) su klasifikovali gliome na osnovu MRI nalaza i kliničkih podataka pre operacije primenom SVM metode. U studiji Zacharaki i saradnika (2009, 2011) veliki broj različitih tehnika mašinskog učenja je primenjivan u klasifikaciji tumora mozga, uključujući različite gliome, meningeome i metastaze, a na osnovu konvencionalnih MRI i PWI nalaza. Orphanidou-Vlachou i saradnici (2014) su koristili ANN u diferencijaciji tumora zadnje lobanjske jame kod dece bazirano na T1W i T2W MRI karakteristikama tumora. Ranjith i saradnici (2015) su koristili različite algoritme mašinskog učenja (*multilayer perceptrons, SVM, random forest, locally weighted learning*) u diferencijaciji benignih i malignih astrocitoma na osnovu $^1\text{H-MRS}$ odlika tumora. Za razliku od prethodnih studija, Veer i saradnici (2015) su primenili različite modele mašinskog učenja za MRI segmentaciju različitih tumora mozga.

U dosadašnjoj literaturi, samo 5 prethodnih studija je imalo sličan istraživački pristup kao ova doktorska studija, sa primenom statističkih analiza i analiza primenom veštačkih metoda inteligencije u diferencijaciji progresije tumora mozga od terapijskih sekvela na osnovu MRI parametara (Hu i sar., 2011; Imani i sar., 2014; Ion-Margineanu i sar., 2015; Qian i sar., 2016; Artzi i sar., 2016). Samo 4 od ovih studija su analizirale MRI parametre u diferencijaciji GBM rekurencije od terapijskih sekvela (Hu i sar., 2011; Ion-Margineanu i sar., 2015; Qian i sar., 2016; Artzi i sar., 2016). Sve 4 navedene studije, uključujući i ovu, su koristile različite metode kompjuterske inteligencije i različite MRI parametre sa istom svrhom. Imani i saradnici (2014) su evaluirali $^{18}\text{F-FDG}$ PET i $^1\text{H-MRS}$ vrednosti kod pacijenata sa progresijom gradus 2 i gradus 3 glioma primenom ROC i SVM modela. Oni su pokazali da je granična vrednost Cho/Cr odnosa bila 3 za ROC analizu i 2.8 primenom SVM analize sa 83% dijagnostičke tačnosti u detekciji progresije tumora u odnosu na nekrozu. Hu i saradnici (2011) su

analizirali DWI i PWI parametre u evaluaciji radijacione nekroze kod pacijenata sa GBM tumorima mozga primenom statističke ROC analize i SVM modela. Ion-Margineanu i saradnici (2015) su analizirali DWI, PWI i ^1H -MRS parametre u istoj populacijskoj grupi, koristeći veliki broj različitih metoda veštačke inteligencije, uključujući i ANN. Qian i saradnici (2016) su analizirali GBM rekurentne tumore i pseudoprogresiju, ali na bazi DTI nalaza i razvijenog prostorno-vremenskog diskriminativnog rečnika učenja (*developed spatial-temporal discriminative dictionary learning*) i SVM metode. Artzi i saradnici (2016) su koristili SVM u diferencijaciji progresije od terapijskih promena na osnovu PWI i ^1H -MRS nalaza. Svi autori su pokazali da modeli kompjuterske inteligencije analizom multiplih MRI parametara mogu da poboljšaju detekciju tumorske progresije ili terapijskih sekvela sa većom dijagnostičkom tačnošću (Hu i sar., 2011; Imani i sar., 2014; Ion-Margineanu i sar., 2015; Qian i sar., 2016; Artzi i sar., 2016). Kao u prethodno navedenim studijama, rezultati ove studije potvrđuju tačnost primenjene metode kompjuterske inteligencije.

Ova studija ima nekoliko limitacija. Prvo, studijska grupa je bila relativno mala. Stoga u ANN analizu nisu uključeni podaci PWI parametara. Drugo, MRI analiza se odnosila samo na deo lezije koji se postkontrastno pojačava u intenzitetu signala, iako je poznato da GBM infiltracija postoji i u delovima tkiva koje se postkontrastno ne opacifikuje. Konačno, u analizi nisu bili uključeni svi MRS parametri, niti DTI, a primenjena je 2D PASL tehnika perfuzije, koja može biti odgovorna za niže normalizovane CBF vrednosti.

U budućnosti, daljni razvoj i klinička primena ANN i drugih modela mašinskog učenja može zameniti invazivne metode u klasifikaciji tumora na osnovu relevantnih MRI odlika. Prednosti ANN, kao što su: sposobnost analize različitih podataka, fleksibilno modelovanje, trening i generalizacija, tačnost rezultata, predikcija sa niskom pristrasnošću i varijacijama, kao i ušteda vremena, predstavljaju dobar razlog za razvoj i kliničku implementaciju ANN (Wang i sar., 2012; Macura i sar., 2015).

6. ZAKLJUČCI

U skladu sa do sada publikovanim istraživanjima, rezultati ove studije su pokazali ne pokazuju razliku u normalizovanim minimalnim i srednjim ADC vrednostima u grupi pacijenata sa GBM rekurentnim tumorom i sa terapijskim sekvelama. Dok je granična vrednost za normalizovanu minimalnu ADC vrednost iznosila 1.14 (54% senzitivnost, 71% specifičnost; AUC=0.508, $p=0.910$), ona je za normalizovanu srednju ADC vrednost iznosila 1.13 (51% senzitivnost, 71% specifičnost; AUC=0.586, $p=0.238$).

Značajan doprinos ove studije je što je u do sada publikovanoj literaturi objavljen samo jedan rad koji se bavio diferenciranjem rekurentnog tumora mozga od terapijskih sekvela primenom SWI analize (Kim i sar., 2014), a ovo je prvi do sada objavljeni rad koji se bavio analizom diferenciranja GBM rekurencije od terapijskih sekvela semikvantitativnom metodom. Statistički rezultati ove studije su pokazali da je viši SWI gradus prisutan u lezijama koje su predstavljale rekurentni GBM tumor, nego u terapijskim sekvelama, te da je granična vrednost SWI gradusa iznosila ≥ 2 (87% senzitivnost, 82% specifičnost; AUC=0.854, $p<0.001$).

U skladu sa do sada objavljenom literaturom, u ovoj studiji je utvrđeno da odnos Cho/Cr > 1.8 signifikantno indikuje prisustvo GBM tumorske rekurencije sa visokom senzitivnošću i specifičnošću (82% senzitivnost, 92% specifičnost; AUC=0.903, $p<0.001$).

Bitan doprinos ove studije je zaključak da ASL tehnika perfuzije može biti integrisana u rutinski MRI protokol, kao alternativa klinički utemeljenoj DSC tehnici perfuzije, a u cilju diferencijacije rekurentnog GBM tumora od terapijskih sekvela. Statistička analiza je ustanovila postojanje visoke i signifikante korelacije između normalizovane CBV i CBF vrednosti u cilju diferencijacije rekurentnog GBM tumora od terapijskih sekvela. Dobijena granična vrednost CBV parametra iz DSC analize je iznosila 2.89 (100% senzitivnost, 100% specifičnost; AUC=1.000, $p<0.001$), što je u skladu sa literaturom. Nasuprot toga, dobijena granična vrednost CBF parametra iz ASL perfuzione analize je iznosila 0.995 (100% senzitivnost, 73.7% specifičnost; AUC=0.967, $p<0.001$), što je manja vrednost u odnosu na publikovane rezultate, a što

se objašnjava malim brojem literaturnih podataka, različitim uzorcima analize, primenjenim različitim ASL tehnikama i metodama interpretacije nalaza. Samo je nekoliko prethodnih studija analiziralo CBF parametre dobijene iz ASL tehnike perfuzije u cilju diferencijacije rekurentnog glijalnog tumora od terapijskih sekvela (Ozsunar i sar., 2010; Järnum i sar., 2010; Choi i sar., 2013; Wang i sar., 2016; Nyberg i sar., 2016; Kim i sar., 2017), od kojih je do sada samo jedna studija analizirala ASL vrednosti perfuzije u cilju diferencijacije rekurentnog GBM tumora od pseudoprogresije (Cho i sar., 2013). Ovo je drugi rad koji se bavio analizom CBF vrednosti dobijenih iz ASL tehnike perfuzije u cilju diferencijacije rekurentnog GBM tumora od terapijskih sekvela. Iako je ASL tehnika perfuzije senzitivnija na artefakte pokreta i susceptibilnosti, redukcija tehničkih nedostataka sa učestalijom primenom ASL tehnike bi bila poželjna, posebno kod kontrolnih MRI pregleda pacijenata sa ciljem da se izbegne ponavljanje intravenske injekcije kontrastnog sredstva.

Poseban doprinos ove studije je razvijena ANN, kao multiparametrijski model mašinskog učenja, koja je pokazala da kombinacija DWI, SWI i ^1H -MRS prediktora može poboljšati dijagnostičku tačnost u odnosu na svaku od pojedinačnih MRI tehnika. Do sada su objavljene samo 4 studije koje su analizirale MRI parametre u diferencijaciji GBM rekurencije od terapijskih sekvela, a koje su, kao i ova doktorska studija, koristile različite metode kompjuterske inteligencije i različite MRI parametre sa istom svrhom (Hu i sar., 2011; Ion-Margineanu i sar., 2015; Qian i sar., 2016; Artzi i sar., 2016). Prema rezultatima ove studije, definisanje multiparametrijskog ANN modela bi mogao biti adekvatan alat podrške za radiologe koji treba da donesu odluke. Predložena ANN predstavlja realnost u 99% slučajeva, što znači da ona simulira lekarske odluke na vrlo visokom nivou.

7. LITERATURA

Abdulla S, Saada J, Johnson G, et al (2015) Tumour progression or pseudoprogression? A review of post-treatment radiological appearances of glioblastoma. *Clinical Radiology* 70: 1299-312.

Ahmed FE (2005) Artificial neural networks for diagnosis and survival prediction in colon cancer. *Molecular Cancer* 4: 29.

Aldea MD, Petrushev B, Soritau O, et al (2014) Metformin plus sorafenib highly impacts temozolomideresistant glioblastoma stem-like cells. *JBUON* 19(2): 502-11.

Artzi M, Liberman G, Nadav G, et al (2016) Differentiation between treatment-related changes and progressive disease in patients with high grade brain tumors using support vector machine classification based on DCE MRI. *J Neurooncol* 127(3): 515-24.

Barajas RF, Jr, Chang JS, Segal MR, et al (2009) Differentiation of recurrent glioblastoma multiforme from radiation necrosis after external beam radiation therapy with dynamic susceptibility-weighted contrast-enhanced perfusion MR imaging. *Radiology* 253: 486–96.

Baritchii A, Jurj A, Soritau O, et al (2016) Sensitizer drugs for the treatment of temozolomide-resistant glioblastoma. *JBUON* 21(1): 199-207.

Behin A, Hoang-Xuan K, Carpentier AF, et al (2003) Primary brain tumours in adults. *Lancet* 361: 323–31.

Bobek-Billewicz B, Stasik-Pres G, Majchrzak H, et al (2010) Differentiation between brain tumor recurrence and radiation injury using perfusion, diffusion-weighted imaging and MR spectroscopy. *Folia Neuropathologica* 48(2): 81-92.

Brandsma D, Stalpers L, Taal W, et al (2008) Clinical features, mechanisms and management of pseudoprogression in malignant gliomas. *Lancet Oncol* 9: 453–61.

Brandsma D, van den Bent MJ (2009) Pseudoprogression and pseudoresponse in the treatment of gliomas. *Curr Opin Neurol* 22(6): 633-8.

Brougham DF, Ivanova G, Gottschalk M, et al (2011) Artificial Neural Networks for Classification in Metabolomic Studies of Whole Cells Using ¹H Nuclear Magnetic Resonance. *J Biomed Biotechnol* 2011: 158094.

Cha J, Kim ST, Kim HJ, et al (2013) Analysis of the layering pattern of the apparent diffusion coefficient (ADC) for differentiation of radiation necrosis from tumour progression. *Eur Radiol* 23: 879–86.

Choi YJ, Kim HS, Jahng GH, et al (2013) Pseudoprogression in patients with glioblastoma: added value of arterial spin labeling to dynamic susceptibility contrast perfusion MR imaging. *Acta Radiologica* 54: 448-54.

Chu HH, Choi SH, Ryoo I, et al (2013) Differentiation of true progression from pseudoprogression in glioblastoma treated with radiation therapy and concomitant temozolomide: comparison study of standard and high-b-value diffusion-weighted imaging. *Radiology* 29: 831–40.

Detre and Alsop (1999) Perfusion magnetic resonance imaging with continuous arterial spin labeling: methods and clinical applications in the central nervous system. *European journal of radiology* 30(2): 115-24.

Detre JA, Wang J, Wang Z, et al (2009) Arterial spin-labeled perfusion MRI in basic and clinical neuroscience. *Current Opinion in Neurology* 22: 348–55.

Devos A, Simonetti AW, van der Graaf M, et al (2005) The use of multivariate MR imaging intensities versus metabolic data from MR spectroscopic imaging for brain tumour classification. *J Magn Reson* 173(2): 218–28.

Eleni T, George F, Ioannis S, et al. (2016) Gross Total Resection, Radiotherapy and Temozolomide as an Aggregate Management, in Patients Suffering Glioblastoma Multiforme (GBM). Can it be Beneficial? Arch Cancer Res 4:1.

Essig M, Anzalone N, Combs SE, et al (2012) MR Imaging of Neoplastic Central Nervous System Lesions: Review and Recommendations for Current Practice. AJNR Am J Neuroradiol 33: 803–17.

Essig M, Shiroishi MS, Nguyen TB, et al (2013) Perfusion MRI: The Five Most Frequently Asked Technical Questions. AJR Am J Roentgenol 200(1): 24–34.

Fellah S, Girard N, Chinot O, et al (2011) Early evaluation of tumoral response to antiangiogenic therapy by arterial spin labeling perfusion magnetic resonance imaging and susceptibility weighted imaging in a patient with recurrent glioblastoma receiving bevacizumab. J Clin Oncol 29(11): e308-11.

Fink J, Born D, Chamberlain MC (2011) Pseudoprogression: Relevance With Respect to Treatment of High-Grade Gliomas. Current Treatment Options in Oncology 12: 240–52.

Fukushima T, Takeshima H, Kataoka H (2009) Anti-glioma therapy with temozolomide and status of the DNA-repair gene MGMT. Anticancer Res 29(11): 4845-54.

Gahramanov S, Muldoon LL, Varallyay CG, et al (2013) Pseudoprogression of glioblastoma after chemo- and radiation therapy: diagnosis by using dynamic susceptibility-weighted contrast-enhanced perfusion MR imaging with ferumoxytol versus gadoteridol and correlation with survival. Radiology 266(3): 842-52.

Grade M, Hernandez Tamames JA, Pizzini FB, et al (2015) A neuroradiologist's guide to arterial spin labeling MRI in clinical practice. Neuroradiology 57: 1181–202.

Haacke EM, Mittal S, Wu Z, et al (2009) Susceptibility-Weighted Imaging: Technical Aspects and Clinical Applications, Part 1. *AJNR Am J Neuroradiol* 30(1): 19–30.

Hagmann P, Jonasson L, Maeder P, et al (2006) Understanding Diffusion MR Imaging Techniques: From Scalar Diffusion-weighted Imaging to Diffusion Tensor Imaging and Beyond. *RadioGraphics*; 26: S205–23.

Hu LS, Baxter LC, Smith KA, et al (2009) Relative cerebral blood volume values to differentiate high-grade glioma recurrence from posttreatment radiation effect: Direct correlation between image-guided tissue histopathology and localized dynamic susceptibility-weighted contrast-enhanced perfusion MR imaging measurements. *AJNR Am J Neuroradiol* 30: 552–8.

Hu X, Wong KK, Young GS, et al (2011) Support Vector Machine (SVM) Multiparametric MRI Identification of Pseudoprogression from Tumor Recurrence in Patients with Resected Glioblastoma. *J Magn Reson Imaging* 33(2): 296–305.

Hygino da Cruz Jr LC, Rodriguez I, Domingues RC, et al (2011) Pseudoprogression and Pseudoresponse: Imaging Challenges in the Assessment of Posttreatment Glioma. *AJNR Am J Neuroradiol* 32: 1978–85.

Imani F, Boada FE, Lieberman FS, et al (2014) Molecular and metabolic pattern classification for detection of brain glioma progression. *Eur J Radiol* 83(2): e100-5.

Ion-Margineanu A, Van Cauter S, Sima DM, et al (2015) Tumour Relapse Prediction Using Multiparametric MR Data Recorded during Follow-Up of GBM Patients. *Biomed Res Int* 2015: 842923.

Järnum H, Steffensen EG, Knutsson L, et al (2010) Perfusion MRI of brain tumours: a comparative study of pseudo-continuous arterial spin labelling and dynamic susceptibility contrast imaging. *Neuroradiology* 52: 307–17.

Kim C, Kim HS, Shim WH, et al (2017) Recurrent Glioblastoma: Combination of High Cerebral Blood Flow with MGMT Promoter Methylation Is Associated with Benefit from Low-Dose Temozolomide Rechallenge at First Recurrence. *Radiology* 282(1): 212-21.

Kim DH, Choi SH, Ryoo I, et al (2014) Differentiation of True Recurrence from Delayed Radiation Therapy-related Changes in Primary Brain Tumors Using Diffusion-weighted Imaging, Dynamic Susceptibility Contrast Perfusion Imaging, and Susceptibility-weighted Imaging. *JKSMRM* 18(2): 120-32.

Kim DY, Kim HS, Goh MJ, et al (2014) Utility of Intravoxel Incoherent Motion MR Imaging for Distinguishing Recurrent Metastatic Tumor from Treatment Effect following Gamma Knife Radiosurgery: Initial Experience. *AJNR Am J Neuroradiol* 35(11): 2082-90.

Kim HS, Suh CH, Kim N, et al (2014) Histogram analysis of intravoxel incoherent motion for differentiating recurrent tumor from treatment effect in patients with glioblastoma: initial clinical experience. *AJNR Am J Neuroradiol* 35(3): 490-7.

Kim M, Kim HS (2016) Emerging Techniques in Brain Tumor Imaging: What Radiologists Need to Know. *Korean J Radiol* 17(5): 598-619.

Knutsson L, Van Westenc D, Petersend ET, et al (2010) Absolute quantification of cerebral blood flow: correlation between dynamic susceptibility contrast MRI and model-free arterial spin labeling. *Magnetic Resonance Imaging* 28: 1–7.

Lee EK, Choi SH, Yun TJ, et al (2015) Prediction of Response to Concurrent Chemoradiotherapy with Temozolomide in Glioblastoma: Application of Immediate Post-Operative Dynamic Susceptibility Contrast and Diffusion-Weighted MR Imaging. *Korean J Radiol* 16(6): 1341–8.

Lehmann P, Monet P, de Marco G, et al (2010) A comparative study of perfusion measurement in brain tumours at 3 Tesla MR: Arterial spin labeling versus dynamic susceptibility contrast-enhanced MRI. *Eur Neurol* 64(1): 21-6.

Li C, Ai B, Li Y, et al (2010) Susceptibility-weighted imaging in grading brain astrocytomas. *Eur J Radiol* 75: e81–5.

Li G, Yang J, Ye C, Geng D (2006) Degree prediction of malignancy in brain glioma using support vector machines. *Comput Biol Med* 36(3): 313–25.

Li W, Cao P, Zhao D, et al (2016) Pulmonary Nodule Classification with Deep Convolutional Neural Networks on Computed Tomography Images. *Comput Math Methods Med* 2016: 6215085.

Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK (2007) WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. 4th edition. Lyon: IARC Press.

Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, et al (2007) The 2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. *Acta Neuropathol* 114: 97–109.

Louis DN, Perry A, Reifenberger G, et al (2016) The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: a summary. *Acta Neuropathol* 131: 803–20.

Lupo JM, Essock-Burns E, Molinaro AM, et al (2013) Using susceptibility-weighted imaging to determine response to combined antiangiogenic, cytotoxic, and radiation therapy in patients with glioblastoma multiforme. *Neuro-Oncology* 15(4): 480–9.

Macura D, Selmic M, Dimitrijevic B, et al (2015) Neural network based model for predicting the number of sleeping cars in rail transport. *International Journal for Traffic and Transport Engineering* 5(1): 29-35.

Mittal S, Wu Z, Neelavalli J, et al (2009) Susceptibility-Weighted Imaging: Technical Aspects and Clinical Applications, Part 2. *AJNR Am J Neuroradiol* 30: 232–52.

Newton HB, Jolesz FA (2007) *Handbook of Neuro-Oncology Neuroimaging*. 1st edition. Cambridge, Massachusetts: Academic Press.

Nyberg E, Honce J, Kleinschmidt-DeMasters BK, et al (2016) Arterial spin labeling: Pathologically proven superiority over conventional MRI for detection of high-grade glioma progression after treatment. *Neuroradiol J* 29(5): 377-83.

Ohgaki H, Kleihues P (2013) The definition of primary and secondary glioblastoma. *Clin. Cancer Res* 19(4): 764-72.

Oken MM, Creech RH, Tormey DC et al (1982) Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol (CCT)* 5: 649-55.

Orphanidou-Vlachou E, Vlachos N, Davies NP, et al (2014) Texture analysis of T1- and T2-weighted MR images and use of probabilistic neural network to discriminate posterior fossa tumours in children. *NMR Biomed* 27(6): 632–9.

Ozsunar Y, Mullins ME, Kwong K, et al (2010) Glioma recurrence versus radiation necrosis? A pilot comparison of arterial spin-labeled, dynamic susceptibility contrast enhanced MRI, and FDG-PET imaging. *Acad Radiol* 17(3): 282-90.

Park MJ, Kim HS, Jahng GH, et al (2009) Semiquantitative Assessment of Intratumoral Susceptibility Signals Using Non-ContrastEnhanced High-Field High-Resolution Susceptibility-Weighted Imaging in Patients with Gliomas: Comparison with MR Perfusion Imaging. *AJNR Am J Neuroradiol* 30(7): 1402-8.

Park SM, Kim HS, Jahng GH, et al (2010) Combination of high-resolution susceptibility-weighted imaging and the apparent diffusion coefficient: added value to

brain tumour imaging and clinical feasibility of non-contrast MRI at 3 T. *The British Journal of Radiology* 83(990): 466–75.

Pecchia I, Dini V, Ricci-Vitiani L, et al (2015) Glioblastoma stem cells: radiobiological response to ionising radiations of different qualities. *Radiat Prot Dosimetry* 166: 374-8.

Peponi E, Tourkantonis I, Tasiou I, et al (2014) Prognostic factors in glioblastoma patients managed with radiotherapy combined with temozolomide. *JBUON* 19(3): 718-23.

Péus D, Newcomb N, Hofer S (2013) Appraisal of the Karnofsky Performance Status and proposal of a simple algorithmic system for its evaluation. *BMC Medical Informatics and Decision Making* 13: 72.

Pollock JM, Tan H, Kraft RA, et al (2009) Arterial Spin Labeled MRI Perfusion Imaging: Clinical Applications. *Magn Reson Imaging Clin N Am* 17(2): 315–38.

Prager AJ, Martinez N, Beal K, et al (2015) Diffusion and Perfusion MRI to Differentiate Treatment-Related Changes Including Pseudoprogression from Recurrent Tumors in High-Grade Gliomas with Histopathologic Evidence. *AJNR Am J Neuroradiol* 36(5): 877–85.

Pruzincová L, Steno J, Srbecký M, et al (2009) MR imaging of late radiation therapy- and chemotherapy-induced injury: a pictorial essay. *Eur Radiol* 19(11): 2716-27.

Qian X, Tan H, Zhang J, et al (2016) Stratification of pseudoprogression and true progression of glioblastoma multiform based on longitudinal diffusion tensor imaging without segmentation. *Med Phys* 43(11): 5889–902.

Ramesh AN, Kambhampati C, Monson JRT, et al (2004) Artificial intelligence in medicine. *Ann R Coll Surg Engl* 86: 334–8.

Ranjith G, Parvathy R, Vikas V, et al (2015) Machine learning methods for the classification of gliomas: Initial results using features extracted from MR spectroscopy. *Neuroradiol J* 28(2): 106-11.

Ricard D, Idbaih A, Ducray F, et al (2012) Primary brain tumours in adults. *Lancet* 379: 1984–96.

Roy B, Awasthi R, Bindal A, et al (2013) Comparative Evaluation of 3-Dimensional Pseudocontinuous Arterial Spin Labeling With Dynamic Contrast-Enhanced Perfusion Magnetic Resonance Imaging in Grading of Human Glioma. *J Comput Assist Tomogr* 37(3): 321-6.

Schweser F, Deistung A, Lehr BW, et al (2010) Differentiation between diamagnetic and paramagnetic cerebral lesions based on magnetic susceptibility mapping. *Med Phys* 37 (10): 5165-78.

Sehgal V, Delproposto Z, Haddar D, et al (2006) Susceptibility-weighted imaging to visualize blood products and improve tumor contrast in the study of brain masses. *J Magn Reson Imaging* 24: 41–51.

Server A, Døli Orheim TE, Graff BA, et al (2011) Diagnostic examination performance by using microvascular leakage, cerebral blood volume, and blood flow derived from 3-T dynamic susceptibility-weighted contrast-enhanced perfusion MR imaging in the differentiation of glioblastoma multiforme and brain metastasis. *Neuroradiology* 53: 319–30.

Shah JL, Li G, Shaffer JL, et al (2017) Stereotactic Radiosurgery and Hypofractionated Radiotherapy for Glioblastoma. *Neurosurgery* 0: 1–11.

Song YS, Choi SH, Park CK, et al (2013) True progression versus pseudoprogression in the treatment of glioblastomas: a comparison study of normalized cerebral blood

volume and apparent diffusion coefficient by histogram analysis. *Korean J Radiol* 14(4): 662-72.

Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ et al (2005) Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med* 352(10): 987-96.

Sundgren PC (2009) MR Spectroscopy in Radiation Injury. *AJNR Am J Neuroradiol* 30: 1469–76.

Sundgren PC, Fan X, Weybright P, et al (2006) Differentiation of recurrent brain tumor versus radiation injury using diffusion tensor imaging in patients with new contrast-enhancing lesions. *Magn Reson Imaging* 24: 1131-42.

Suzuki K (2009) Supervised “Lesion-Enhancement” Filter by Use of a Massive-Training Artificial Neural Network (MTANN) in Computer-Aided Diagnosis (CAD). *Phys Med Biol* 54(18): S31–45.

Taylor JW, Schiff D (2015) Treatment considerations for MGMT-unmethylated glioblastoma. *Curr Neurol Neurosci Rep* 15(1): 507.

Thomsen H, Steffensen E, Larsson E-M (2012) Perfusion MRI (dynamic susceptibility contrast imaging) with different measurement approaches for the evaluation of blood flow and blood volume in human gliomas. *Acta Radiologica* 53: 95–101.

Tong KA, Ashwal S, Obenaus A, et al (2008) Susceptibility-weighted MR imaging: a review of clinical applications in children. *AJNR Am J Neuroradiol* 29 (1): 9-17.

Van Westen D, Petersen ET, Wirestam R, et al (2011) Correlation between arterial blood volume obtained by arterial spin labelling and cerebral blood volume in intracranial tumours. *MAGMA* 24: 211–23.

Veer SS, Patil PM (2015) Brain tumor classification using artificial neural network on MRI images. *IJRET: International Journal of Research in Engineering and Technology* 4(12): 218-26.

Verma N, Cowperthwaite MC, Burnett MG, et al (2013) Differentiating tumor recurrence from treatment necrosis: a review of neurooncologic imaging strategies. *Neuro-Oncology* 15(5): 515–34.

Vogelbaum MA, Jost S, Aghi MK, et al (2012) Application of Novel Response/Progression Measures for Surgically Delivered Therapies for Gliomas: Response Assessment in Neuro-Oncology (RANO) Working Group. *Neurosurgery* 70(1): 234-43.

Wang P, Li J, Diao Q, et al (2016) Assessment of glioma response to radiotherapy using 3D pulsed-continuous arterial spin labeling and 3D segmented volume. *Eur J Radiol* 85(11): 1987-92.

Wang S, Summers RM (2012) Machine Learning and Radiology. *Med Image Anal* 16(5): 933–51.

Warmuth C, Gunther M, Zimmer C (2003) Quantification of Blood Flow in Brain Tumors: Comparison of Arterial Spin Labeling and Dynamic Susceptibility weighted Contrast-enhanced MR Imaging. *Radiology* 228(2): 523-32.

Weber MA, Kroll A, Günther M, et al (2004) Noninvasive measurement of relative cerebral blood flow with the blood bolus MRI arterial spin labeling: basic physics and clinical applications. *Radiologe* 44(2): 164-73.

Weller M, Van de Bent M, Tonn CT, et al (2017) European Association for Neuro-Oncology (EANO) guideline on the diagnosis and treatment of adult astrocytic and oligodendroglial gliomas. *Lancet Oncol* 18: e315–29.

Wen PY, Macdonald DR, Reardon DA, et al (2010) Updated response assessment criteria for high-grade gliomas: response assessment in neuro-oncology working group. *J Clin Oncol* 28(11): 1963-72.

Yamashita K, Yoshiura T, Hiwatashi A, et al (2013) Differentiating primary CNS lymphoma from glioblastoma multiforme: assessment using arterial spin labeling, diffusion-weighted imaging, and ¹⁸F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *Neuroradiology* 55(2): 135-43.

Ye J, Bhagat SK, Li H, et al (2016) Differentiation between recurrent gliomas and radiation necrosis using arterial spin labeling perfusion imaging. *Exp Ther Med* 11(6): 2432–6.

Young RJ, Gupta A, Shah AD, et al (2013) MRI perfusion in determining pseudoprogression in patients with glioblastoma. *Clinical Imaging* 37: 41–49.

Young RM, Jamshidi A, Davis G, et al (2015) Current trends in the surgical management and treatment of adult glioblastoma. *Ann Transl Med* 3(9): 121.

Zacharaki EI, Kanas VG, Davatzikos C (2011) Investigating machine learning techniques for MRI-based classification of brain neoplasms. *Int J Comput Assist Radiol Surg* 6(6): 821–8.

Zacharaki EI, Wang S, Chawla S, et al (2009) Classification of brain tumor type and grade using MRI texture and shape in a machine learning scheme. *Magn Reson Med* 62(6): 1609–18.

Zeng QS, Li CF, Liu H, et al (2007) Distinction between recurrent glioma and radiation injury using magnetic resonance spectroscopy in combination with diffusion-weighted imaging. *Int J Radiation Oncology Biol Phys* 68: 151-8.

Zhang F, Xu CL, Liu CM (2015) Drug delivery strategies to enhance the permeability of the blood–brain barrier for treatment of glioma. *Drug Des Devel Ther*; 9: 2089–100.

Zhang H, Tan Y, Wang XC, et al (2013) Susceptibility-weighted imaging: The value in cerebral astrocytomas grading. *Neurology India* 61(4): 389-95.

SPISAK SKRAĆENICA

¹H-MRS - Proton Magnetic Resonance Spectroscopy
 2D - dvodimenzionalno
 ADC - Apparent-diffusion coefficient
 AIF - Arterial Input Function
 ANN - Artificial Neuronal Network
 ASL - Arterial Spin Labeling
 CASL - Continuous ASL
 CBF - Cerebral Blood Flow
 CBV - Cerebral Blood Volume
 Cho – Choline
 Cr – Creatine
 CSI - Chemical Shift Imaging
 CT - Computed Tomography
 DSC - Dynamic Susceptibility Contrast
 DSCE - Dynamic Susceptibility Contrast Enhanced
 DTI - Diffusion-tensor Imaging
 DWI - Diffusion-weighted Imaging
 ECOG - Eastern Cooperative Oncology Group
 EPI - Echo Planar Imaging
 FA - Flip angle
 FLAIR - Fluid-Attenuated Inversion Recovery
 fMRI - functional Magnetic Resonance Imaging
 FOV - Field of view
 GBM - Glioblastoma multiforme
 Gd - gadopentetate dimeglumine
 IT - Inversion time
 Lac – Lactate
 Lip – Lipids
 MGMT - O⁶-methylguanin DNK metiltransferaza
 mI - myo-Inositol
 MPRAGE - Magnetization Prepared Rapid Acquisition Gradient Echo
 MRI - Magnetic Resonance Imaging

MTT - Mean Transite Time
NAA - N-acetylaspartate
nCBF - normalized CBF
nCBV - normalized CBV
NSA - number of signal averages
PASL - pseudocontinuous ASL
post label delay - vreme odlaganja nakon obeležavanja
ppm - parts per million
PS - performantni status
PWI - Perfusion-weighted Imaging
RANO - The Response Assessment in Neuro-Oncology
rCBF - relative CBF
rCBV - relative CBV
ROC kriva - receiver operating characteristic curve
ROI - Region of interest
SD - standardna devijacija
SE - Spin-Eho
SNR - Signal to Noise ratio
SVM - Support Vector Machine
SVS - Single Voxel Spectroscopy
SWI - Susceptibility-weighted Imaging
T - Tesla
T1WI - T1-weighted imaging
T2WI - T2-weighted imaging
TA - Time of acquisition
TE - Time of echo
TR - Time of repetition
WHO - World Health Organization

Biografija autora

Dr Marija Mačvanski, udato Jovanović, rođena je 31.januara 1980.godine u Beogradu. Osnovnu školu i X beogradsku gimnaziju „Mihajlo Pupin“ završila je u Beogradu sa odličnim uspehom. 1999.godine upisala je Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, koji je završila 2006. godine sa prosečnom ocenom 8,74.

Doktorske studije iz epidemiologije na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu upisala je 2008.godine, i položila sve predmete planirane Planom i programom studija.

Nakon lekarskog staža i položenog državnog ispita, tokom 2007. godine je volontirala u Službi za radiološku dijagnostiku Instituta za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije „Dr Vukan Čupić“ u trajanju od 6 meseci.

Od 2007. do 2009. godine radila je kao klinički asistent na Katedri za radiologiju Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, a volontirala u Dijagnostičkom centru iste ustanove.

Od maja 2009. godine dr Jovanović je započela sa radom u Centru za magnetnu rezonanciju Kliničkog centra Srbije u Odseku za neuroradiologiju, gde i danas radi.

U januaru 2010. godine je upisala specijalističke studije iz radiologije, koje je završila 2015. godine sa odličnim uspehom.

Bila je učesnik u više naučno-istraživačkih međunarodnih projekata, a stalni je član Konzilijuma za bolesti centralnog nervnog sistema Klinike za neurohirurgiju Kliničkog centra Srbije.

Dr Jovanović je objavila do sada 9 naučnih radova u naučnim časopisima, kao i veliki broj radova na naučnim skupovima. Bila je predavač i učesnik na mnogobrojnim domaćim i međunarodnim školama i kongresima, kao i stručnim skupovima druge vrste. Aktivno govori engleski i nemački jezika.

Udata je i majka jedne devojčice.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора Марија Јовановић

Број индекса 08-ДС-ЕП-32

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом:

„Примена различитих перфузионих техника магнетне резонанце мозга у циљу

диференцирања посттерапијских секвела и туморских промена код особа са

глиобластомом”

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, 27.06.2017.

Јовановић

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Марија Јовановић

Број индекса 08-ДС-ЕП-32

Студијски програм Докторске студије - епидемиологија, Медицински факултет
Београд

Наслов рада „Примена различитих перфузионих техника магнетне резонанце
мозга у циљу диференцирања посттерапијских секвела и туморских промена код
особа са глиобластомом“

Ментор Проф.др Ружица Максимовић

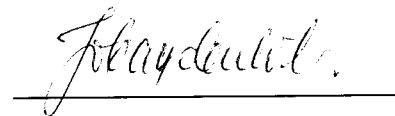
Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањена у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, 27.06.2017.



Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

„Примена различитих перфузионих техника магнетне резонанце мозга у циљу диференцирања посттерапијских секвела и туморских промена код особа са глиобластомом“

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.
Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, 27.06.2017.



1. **Ауторство.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.